



Interactions tritrophiques entre des Brassicacées, des pucerons et un parasitoïde : Importance des plantes hôtes et des plantes voisines

Pauline Le Guigo

► To cite this version:

Pauline Le Guigo. Interactions tritrophiques entre des Brassicacées, des pucerons et un parasitoïde : Importance des plantes hôtes et des plantes voisines. Biologie végétale. Université d'Angers, 2010. Français. NNT : . tel-00579871

HAL Id: tel-00579871

<https://theses.hal.science/tel-00579871>

Submitted on 25 Mar 2011

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Interactions tritrophiques entre des Brassicacées, des pucerons et un parasitoïde

Importance des plantes hôtes et des plantes voisines

Thèse de doctorat

Spécialité Sciences Agronomiques

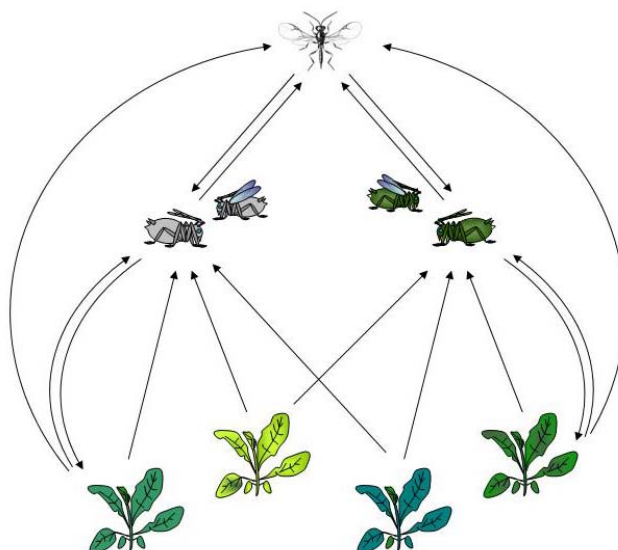
Ecole doctorale VENAM

Pr sent e et soutenue publiquement

le 15 décembre 2010

  Agrocampus Ouest – Centre d'Angers

par Pauline LE GUIGO



devant le jury ci-dessous:

Frédéric FRANCIS, (Rapporteur), Professeur, Université de Li ge, Agro-Bio Tech, Gembloux, Belgique

Sergine PONSARD, (Rapporteur), Professeure, Université Paul Sabatier, Toulouse

David GIRON, (Examineur), Maitre de conférences, Université de Tours

Manuel PLANTEGENEST, (Examineur), Maître de conférences, Agrocampus-Ouest, Rennes

Josiane LE CORFF, (Directrice de thèse), Professeure, Agrocampus Ouest, Angers

Nom et coordonnées du laboratoire :

UMR BiO3P – Biologie des Organismes et des Populations appliqu e à la Protection des Plantes

Agrocampus-Ouest – Centre d'Angers

Institut National d'Horticulture et du Paysage

2 rue Le Nôtre, 49 045 Angers cedex 01

Remerciements

Aux membres du jury et du comité de thèse....

Tout d'abord je tiens à remercier les membres qui composent ce jury de thèse et tout particulièrement Frédéric Francis et Sergine Ponsard pour avoir accepté d'être rapporteurs de ce manuscrit. Je remercie également David Giron et Manuel Plantegenest d'avoir accepté d'être examinateurs de cette thèse. Tout ce travail n'aurait pu voir le jour sans les conseils avisés des membres de mon comité de thèse, Anne-Marie Cortesero, Yannick Outreman, Emmanuel Corcket et Claire Champion. Vos suggestions et commentaires m'ont permis d'aller plus loin dans mes réflexions, et m'ont confortée dans les choix à prendre durant cette thèse.

A ma directrice de thèse...

Je remercie Josiane Le Corff pour l'encadrement parfaitement approprié de cette thèse qui m'a permis de me sentir libre dans le sujet et en même temps suffisamment guidée pour ne pas me perdre... Ton aide m'a été plus que précieuse, et je ne serais jamais parvenue à un tel avancement sans tes corrections. Il paraît que l'on n'oublie jamais son directeur de thèse ;-)

Aux laboratoires qui m'ont aidée...

Je remercie les personnes de l'INRA du Rheu pour leur accueil chaleureux lors de mes différents passages pour des analyses génétiques de pucerons et des parasitoïdes, et plus particulièrement Jean Christophe Simon pour ses conseils, Solenn Stoeckel et Hélène Magalon pour m'avoir aidée dans l'interprétation des données de génétique, et enfin Lucie Mieuzet pour l'apprentissage des techniques de génotypages sur pucerons et parasitoïdes et aussi pour ton amitié et ton sourire. Je remercie l'UMR PMS, Pascale Satour et Johann Pierre pour le dosage des sucres contenus dans la sève de mes plantes. Je remercie également le laboratoire GRAPPE de l'ESA, et plus précisément Ronan Symoneaux, pour m'avoir permis de mesurer la dureté des feuilles de Brassicacées.

A l'équipe de recherche...

Je remercie Bruno Jaloux, Armin Bischoff, Yann Tricault et Philippe Robert pour leurs divers conseils lors des réunions IPI (entendez Interactions Plantes Insectes et non HIPPIE). Je remercie Ferréol Brault et Michèle Travers pour les élevages de pucerons *Brevicoryne brassicae*, *Myzus persicae* et du parasitoïde *Diaeretiella rapae* et pour tous leurs petits conseils pratiques. Je n'oublie pas non plus les personnes du département sciences biologiques : Valéry, Latifa, Claudie, Hervé et Stéphane. Je remercie également Rémi Gardet, Jacky Granger et Henri Carpentier pour le support logistique en serre et sur le terrain. Eric pour les réparations express de chambres climatisées et accessoirement d'imprimantes. Je remercie aussi Isabelle Besse pour la collecte de graines de Brassicaceae, et les stagiaires qui ont contribué à cette thèse : Ying, Aurore, Alexandre et Quentin. Vous encadrer m'a appris d'apprécier pleinement ce travail, et partager avec vos yeux naïfs les mystères du clonage des pucerons et les analyses sous R, restera pour moi un très bon souvenir...

A l'équipe de sport...

Je ne peux pas écrire des remerciements sans citer Soulaïman et ses séances de Yoseikan training, Loly et son rire avec un léger accent espagnol, et Sylvaine et ses conseils régimes suivi de consommation de chocolat ;-)). Vive les contradictions ! Pour ne pas faire de jaloux, je remercie aussi mes coéquipières de badminton, de piscine et de course à pied. Vous avez contribué à faire de moi « une tête saine dans un corps sain ».

Aux filles du bureau...

Je remercie Jeanne pour les discussions jusqu'à tard le soir au bureau sur la dure vie de doctorants, pour les petits repas improvisés au labo et pour les cours de sauvetage en piscine où j'ai failli me noyer des centaines de fois. Merci aussi pour ton optimisme. Je remercie Gaëlle pour certains moments mémorables tels que celui où elle a vainement essayé d'enlever les boulons de l'enjoliveur lorsque nous avons éclaté un pneu en bord de champs et pour avoir dit « bah je ne change pas les roues moi, c'est un truc d'homme ! ». Vive le machisme, tu as raison ! Je te remercie également pour les longs moments passés à discuter avec toi. Je remercie Marie, ma nouvelle colocataire de bureau pour avoir su comprendre rapidement qu'en fin de thèse on n'aime pas être distrait. Mais aussi pour tous les très bons moments passés ensemble à parler (et oui encore une fois, je ne suis pas une fille pour rien !), et aussi pour les tomates poires et les kouign amann dans les derniers moments. Hum ! Je te souhaite plein de courage pour la suite...

Aux filles tout simplement...

Je te remercie Amandine pour ton sourire et ta joie de vivre constante ! Tu m'as beaucoup apporté personnellement, plus que je ne saurais l'écrire... La prochaine thèse c'est la tienne et je compte bien te soutenir comme tu l'as fait pour moi. Je remercie aussi Laure pour son énergie débordante et pour les soirées « au bar de la marine », Sab' pour son amour des bonnes choses, vive les gratons de canard et le tariquet, Amélie pour les pauses « y'en a marre » ainsi que Clémence et Gus pour les multiples invitations aux soirées barbeuc et les bons gâteaux au chocolat. Je te remercie aussi Emilie, même si tu as suivi toutes mes péripéties à distance, je sais que tu n'étais pas loin... Finalement les filles, je vous remercie surtout pour tous les éclats de rires que l'on a pu avoir ensemble... Je n'oublierai jamais.

Aux gourmandises et autres...

Evidemment, je remercie aussi la boulangerie/pâtisserie « le grenier à pain », pour tous les bons gâteaux et autres gourmandises, les « Monster Munch » pour leurs craquants, sans oublier le thé Lipton « Orange Jaipur » et Twinings « Orange cannelle » pour varier, sans qui je n'aurais pas tenu trois ans de thèse.

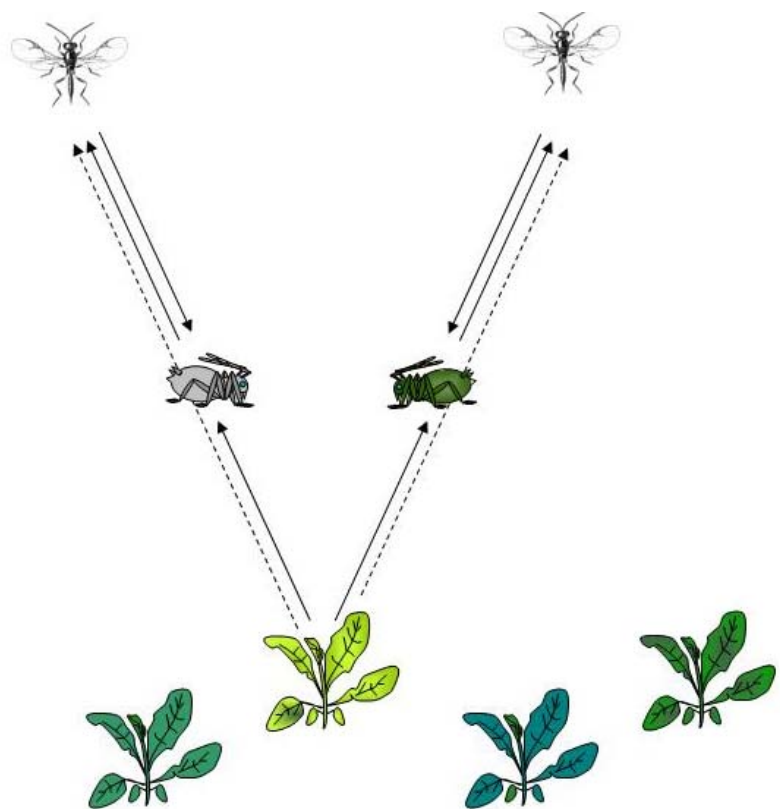
A ma famille...

Je remercie aussi ma famille qui m'a toujours épaulée et qui m'a tellement fait voyager. Cela me permet aujourd'hui de relativiser beaucoup de choses. Vous serez toujours très importants à mes yeux...

Enfin, je te remercie Vincent, pour ton calme et pour ta compréhension, pour ton rire et pour ta joie, pour ta manière simple de croquer la vie et pour avoir toujours été là pour moi tout simplement...

En hommage à « Albert » le puceron mort pour la science (RIP : 23 nov. 2008),

Introduction



1. Introduction

Depuis l'hypothèse du monde vert (« the green world hypothesis ») de Hairston, Smith et Slobodkin (1960), la régulation des populations de phytophages est vue comme le résultat de l'effet « Top Down », ou de l'effet « Bottom Up ». L'effet « Top Down » suppose une régulation des populations de phytophages par les niveaux trophiques supérieurs. En effet, les ennemis naturels par la pression de prédation ou de parasitisme qu'ils exercent peuvent réguler les populations de phytophages (Halaj et Wise, 2001) (Figure 1a). Au contraire, l'effet « Bottom up » suppose une régulation des populations de phytophages par les plantes. Les plantes en étant les producteurs primaires, constituent la base des réseaux trophiques, et leurs caractéristiques morphologiques, physiologiques, nutritives, physiques, architecturales ou chimiques peuvent limiter le développement des populations de phytophages. Les plantes peuvent avoir un impact négatif sur les performances des phytophages. Par exemple, Petermann *et al.* (2010) en milieu naturel et Winter *et al.* (2010) en laboratoire montrent que l'absence d'azote peut entraîner une diminution du poids des phytophages. Les défenses des plantes peuvent également influencer les performances des phytophages. Ainsi, les trichomes (défenses physiques) chez *Solanum sisymbriifolium* augmentent la mortalité des larves de *Gratiana spadicea* (Medeiros et Moreira, 2005). De même, les défenses chimiques rencontrées chez certaines espèces de plantes comme les alcaloïdes ou les glycosides peuvent réduire les performances des phytophages *Manduca sexta* et *Trichoplusia ni* (Lampert et Bowers, 2010; Barbosa *et al.*, 1991) (Figure 1b.).

Les plantes peuvent également avoir un impact direct ou indirect sur les populations de phytophages par l'intermédiaire des ennemis naturels. Par exemple, l'absence d'azote dans la plante en diminuant les performances des phytophages, va indirectement diminuer les performances des ennemis naturels (Petermann *et al.*, 2010; Winter et Rostas, 2010). De plus, les défenses des plantes en ayant un impact négatif sur les phytophages peuvent réduire de manière indirecte les performances des ennemis naturels (Vos *et al.*, 2004) (Figure 1b.). Toutefois, les défenses des plantes peuvent également attirer les ennemis naturels en émettant des composés volatils. Les ennemis naturels sont capables de reconnaître de manière spécifique les composés émis par les plantes attaquées par leurs phytophages hôtes (Agbogba et Powell, 2007). Ainsi, l'effet « Bottom Up » des plantes sur les ennemis naturels peut indirectement réduire l'effet « Top Down », ou au contraire le renforcer par attraction des ennemis naturels (Figure 1b.).

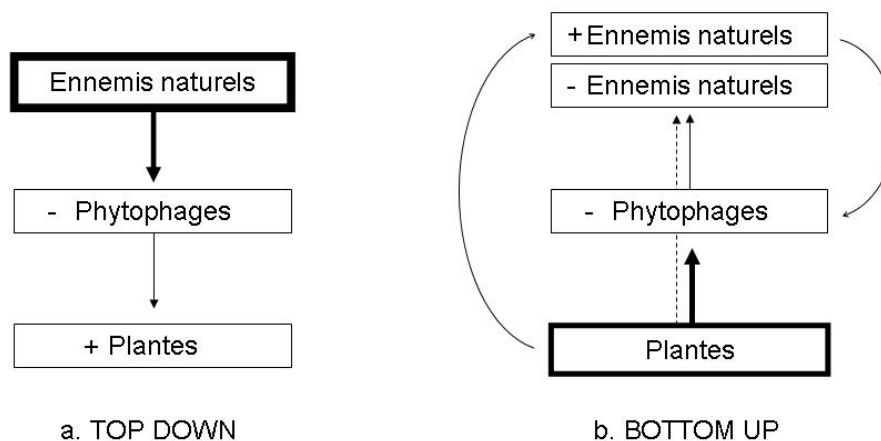


Figure 1: Schéma présentant les deux hypothèses qui expliquent "pourquoi le monde est vert": la régulation des populations de phytophages se fait soit par les ennemis naturels (effet « Top Down »), soit par les plantes (effet « Bottom up »). Les interactions directes sont représentées en traits pleins tandis que les interactions indirectes sont représentées en pointillés. Les plantes peuvent agir de manière indirecte (*via* les phytophages) sur les performances des ennemis naturels, et de manière directe sur leurs performances et leurs préférences.

L'effet « Top Down » a longtemps été supposé plus important que l'effet « Bottom Up » (Berryman, 2002), la croissance des populations de phytophages étant supposée limitée par l'action des prédateurs (« Top Down ») et non par la disponibilité de la ressource en plantes (« Bottom up ») qui apparaît virtuellement illimitée (Hairston *et al.*, 1960). Néanmoins, de plus en plus d'études montrent que les populations de phytophages pourraient être fortement dépendantes des plantes hôtes et que ces effets « Bottom Up » influenceraient à la fois les phytophages et les ennemis naturels.

Jusqu'à présent, les interactions trophiques ont été surtout abordées en prenant en compte les caractéristiques individuelles d'une plante hôte sur les populations de phytophages et ennemis naturels (Figure 2).

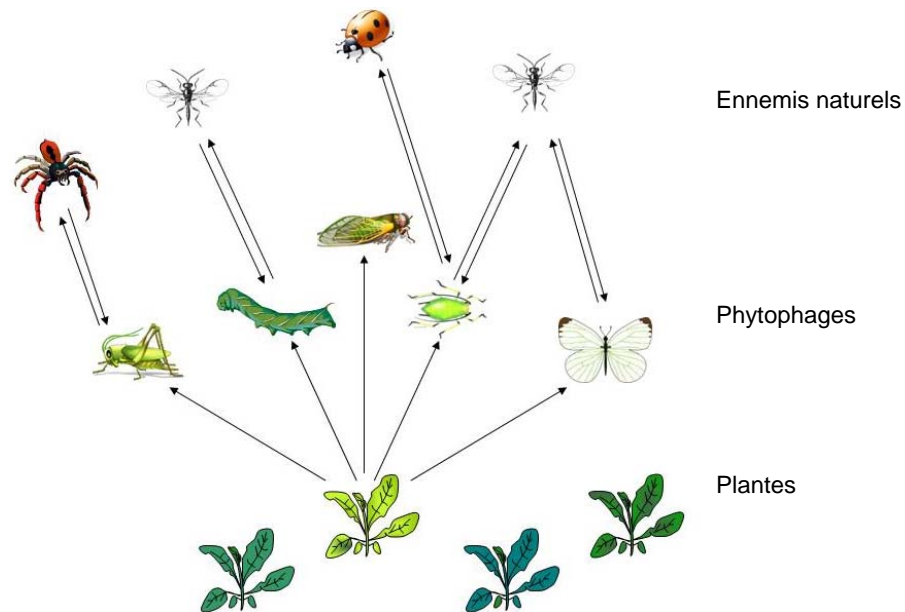


Figure 2: Schéma représentant la diversité des interactions entre plantes, phytophages et ennemis naturels. Jusqu'à présent, seules les caractéristiques individuelles d'une plante hôte ont été prises en compte.

Au sein d'une même famille botanique, les différentes espèces peuvent présenter des différences en lien avec les défenses contre les bioagresseurs. En effet, lors d'une attaque de pathogènes ou de phytophages, les plantes peuvent mettre en jeu plusieurs types de défenses. Elles peuvent se défendre physiquement par des épines et des trichomes et/ou chimiquement par des composés secondaires. Ces défenses sont dites constitutives lorsqu'elles sont présentes dans la plante, ou induites si elles sont produites suite à l'attaque d'un phytophage ou d'un pathogène (Poelman *et al.*, 2008b; Agrawal, 1999). Toutefois, dans le cas des défenses chimiques, elles semblent plus efficaces contre les phytophages généralistes que contre les phytophages spécialistes : les spécialistes peuvent avoir développé des mécanismes d'adaptation leur permettant de contourner les défenses des plantes et exploiter les ressources fournies par celles-ci. De plus, les défenses produites par les plantes pour se défendre contre les phytophages, peuvent être détournées par les phytophages spécialistes pour lutter contre leurs propres ennemis naturels. Par exemple, les terpènes contenus dans la plante *Aristolochia californica* n'affectent pas les performances du phytophage *Battus philenor*, mais augmentent la mortalité de son prédateur *Chrysoperla* (Fordyce, 2001). De même, les performances du phytophage *Tetranychus urticae* ne sont pas affectées par les alcaloïdes contenus dans *Cucumis sativus* mais ces alcaloïdes réduisent la fécondité du prédateur *Phytoseiulus persimilis* (Agrawal *et al.*, 2002). Outre l'impact des défenses des plantes sur les performances des phytophages et des ennemis naturels, les plantes peuvent également influencer le comportement de ces organismes.

Les caractéristiques individuelles des plantes ainsi que l'environnement proche de ces plantes peuvent affecter le comportement des phytophages. Ainsi, la régulation des populations de phytophages (effet « Bottom Up ») peut également être due à des modifications du comportement de choix de la plante hôte. Les phytophages généralistes auraient ainsi tendance à éviter les plantes sur lesquelles leurs performances sont réduites (Poelman *et al.*, 2008a; Shiojiri *et al.*, 2002; Agrawal et Sherriffs, 2001) tandis que les spécialistes se serviraient des composés secondaires pour localiser leur plante hôte. Par conséquent, une plante exposée à de nombreux phytophages généralistes aurait une meilleure « fitness » si elle produit des défenses qui éloignent les phytophages généralistes. En revanche, une plante potentiellement attaquée par des phytophages spécialistes, aurait une « fitness » réduite si elle produit des composés qui attirent ces phytophages spécialistes (Poelman *et al.*, 2008b; Mithen *et al.*, 1995). De plus, les plantes poussent rarement isolées et l'environnement proche d'une plante peut également influencer le choix d'une plante hôte par des phytophages. Ainsi, la colonisation d'une plante cible par des phytophages spécialistes et généralistes pourrait être influencée par la présence de plantes voisines attractives ou répulsives. Des études ont montré que les plantes voisines, par l'intermédiaire de leurs composés chimiques toxiques ou de leurs caractéristiques physiques (grande taille ou présence d'épines) pouvaient repousser des phytophages généralistes (Barbosa *et al.*, 2009), conduisant à une résistance par association pour la plante cible (Atsatt et Odowd, 1976). Ce phénomène peut également avoir lieu si les plantes voisines sont très attractives (présence de composés spécifiques) pour un phytophage spécialiste. Néanmoins, ces plantes voisines attractives peuvent également entraîner une colonisation plus importante de la plante cible lorsque les phytophages colonisent après les plantes voisines plus "appétentes" la plante cible moins appréciée. Dans ce cas, il s'agit du phénomène de susceptibilité par association. Afin de mieux appréhender le rôle joué par les plantes dans la régulation des populations de phytophages, il apparaît donc nécessaire de prendre en compte la présence de plantes voisines sur le comportement de choix des phytophages.

Aux défenses directes des plantes contre les phytophages peuvent s'ajouter des défenses indirectes *via* l'attraction des ennemis naturels (Turlings *et al.*, 1995; Turlings *et al.*, 1990). Cette attraction faciliterait la localisation par les ennemis naturels de leurs plantes hôtes et par la même occasion de leurs hôtes ou proies. De plus, si les ennemis naturels contribuent à limiter le développement des populations de phytophages (effet « Top Down »), ils augmenteraient ainsi la « fitness » des plantes (Dicke, 2009). Il a été également observé que des plantes voisines attaquées peuvent attirer les ennemis naturels des phytophages présents

sur une plante cible, lui procurant ainsi une protection contre ses agresseurs (hypothèse de résistance par association *via* les ennemis naturels (Stiling *et al.*, 2003)).

L'impact des plantes sur le comportement et le développement des phytophages et des ennemis naturels peut parfois conduire à une structuration génétique des populations d'insectes (Toneatto *et al.*, 2010; Figueroa *et al.*, 2004). En effet, les composés toxiques des plantes peuvent affecter le comportement et le développement des phytophages et donc potentiellement limiter les échanges entre plantes hôtes et conduire à une structuration génétique des populations de phytophages par plantes hôtes. Toutefois, le rôle des défenses dans la structuration des populations d'ennemis naturels n'a pas été clairement mise en évidence à ce jour.

Jusqu'à présent, la régulation des populations de phytophages par les plantes a surtout été abordée en considérant l'impact des caractéristiques individuelles des plantes sur les performances des phytophages et des ennemis naturels. Peu d'études comparent l'impact de différentes espèces de plantes hôtes et des plantes du voisinage sur les préférences (alimentaires, reproductives, comportementales) et les performances des niveaux trophiques supérieurs. De plus, les performances et les préférences des phytophages diffèrent en fonction de leur degré de spécialisation. L'objectif de cette thèse est donc i) de comparer l'impact de différentes espèces de plantes sur les performances de phytophages généralistes et spécialistes et de leurs ennemis naturels (Chapitre I), ii) d'évaluer l'impact de l'environnement proche des plantes sur le comportement des phytophages et des ennemis naturels (Chapitre II), iii) et de mettre en évidence une éventuelle structuration génétique des populations de phytophages et d'ennemis naturels par plantes hôtes (Chapitre III).

1.1. Présentation du matériel biologique

Afin de vérifier si les populations de phytophages sont régulées par la disponibilité de la ressource en plantes (effet « Bottom Up ») ou par les ennemis naturels (effet « Top Down »), nous avons choisi quatre espèces de plantes de la famille des Brassicacées (Ordre des Brassicales), dont deux espèces de plantes cultivées (*Brassica napus* L. et *B. oleracea* L.) et deux espèces de plantes sauvages (*Sinapis arvensis* L. et *B. nigra* L.), deux phytophages attaquant les plantes de cette famille, un phytophage généraliste *Myzus persicae* (Sulzer) et un phytophage spécialiste *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus), et un parasitoïde *Diaeretiella rapae*

(M'Intosh) qui a pour hôtes ces deux pucerons. Cette thèse se décline en trois axes et combine à la fois des données de laboratoire et de terrain.

1.1.1. Les caractéristiques principales es de la famille des Brassicaceae

Afin de mieux comprendre l'impact des plantes hôtes et des plantes voisines sur les interactions trophiques, nous avons choisi des Brassicacées qui présentent des niveaux contrastés de défenses physiques (trichomes ou cire) et de défenses chimiques (glucosinolates). Lors d'une attaque par un ravageur, les glucosinolates présents dans les compartiments subcellulaires des feuilles (i.e. les vacuoles) entrent en contact avec l'enzyme myrosinase (voir Rask *et al.*, 2000) stockée dans les idioblastes de ces mêmes cellules et forment, dans le cas de composés indoliques ou aliphatiques, des composés volatils très toxiques pour les insectes dont les isothiocyanates, les nitriles, etc. (Kissen *et al.*, 2009) ainsi que des composés non volatils. Il existe des différences dans la concentration et la composition en glucosinolates entre les différentes parties d'une même plante (Birch *et al.*, 1992), en fonction de son âge (Fieldsend et Milford, 1994; Porter *et al.*, 1991) ou au cours de l'année (Gols *et al.*, 2007). Néanmoins, les variations interspécifiques sont supposées être plus importantes que les variations intraspécifiques (Fahey *et al.*, 2001).

Outre la concentration et la composition en glucosinolates, les espèces de Brassicacées peuvent également présenter des phénologies différentes, être cultivées ou non, présenter des teneurs en saccharose plus ou moins élevées et des feuilles plus ou moins dures. Afin de comparer le développement et le comportement des niveaux trophiques supérieurs sur différentes espèces de plantes, nous avons choisi deux espèces cultivées *B. napus* et *B. oleracea* qui présentent peu de défenses physiques et chimiques et plus de nutriments. Elles sont donc supposées permettre un meilleur développement des phytophages et des ennemis naturels que les plantes sauvages *S. arvensis* et *B. nigra*. *B. oleracea* présente surtout des glucosinolates indoliques, *B. napus* et *B. nigra* des glucosinolates aliphatiques et *S. arvensis* des glucosinolates aromatiques. Ces espèces ont été choisies parce qu'elles sont relativement abondantes dans les agroécosystèmes que nous avons étudiés et elles sont donc souvent en contact avec les phytophages et le parasitoïde utilisés lors de nos expérimentations.

Les données sur les quatre espèces de Brassicacées présentées dans le Tableau 1 ont été acquises au cours de cette thèse et les méthodes de dosage des glucosinolates, de mesure du nombre de trichomes et de la dureté des feuilles sont présentées dans le Chapitre 1, article 2. La teneur en saccharose des plantes a été obtenue en récupérant la sève brute et élaborée de 10 feuilles pour dosage en HPLC.

Tableau 1: Caractéristiques des quatre espèces de plantes hôtes de la famille des Brassicacées choisies pour mesurer l'impact des espèces de plantes hôtes sur la régulation des populations de phytophages. Ce tableau présente des données obtenues au cours de cette thèse. Le nombre de répétition est inscrit entre parenthèse (N=2, 6 ou 10), et les initiales GLS font références aux glucosinolates. Seule la composition principale en glucosinolates est indiquée mais il est évident que ces espèces possèdent plus d'un composé de défenses.

		<i>B. napus</i>	<i>B. oleracea</i>	<i>S. arvensis</i>	<i>B. nigra</i>
Dénomination	Variété	NK Bravour	<i>acephala</i> var.bonanza	-	-
	nom commun	Colza	Chou	Moutarde des champs	Moutarde noire
Défenses chimiques	concentration en GLS ($\mu\text{mol.g}^{-1}$) (N=6)	5.32 \pm 1.81	4.51 \pm 0.38	18.22 \pm 4.97	51.02 \pm 7.23
	composition principale en GLS (N=6)	glucobrassicinapine	glucobrassicine	sinalbine	sinigrine
Défenses physiques	nombre de trichomes (cm^2) (N=10)	0 \pm 0	0 \pm 0	19.3 \pm 1.4	26.1 \pm 2.4
	concentration en saccharose total ($\text{mg.}\mu\text{l}^{-1}$)				
Physiologie	(N=2x10 feuilles)	1274.76 \pm 413.65	844.85 \pm 38.51	256.24 \pm 106.77	1032.94 \pm 344.51
	dureté des feuilles en Newton (N=6)	1.37 \pm 0.11	1.60 \pm 0.03	0.64 \pm 0.04	0.51 \pm 0.03
Biologie	Phénologie	absente de juillet à septembre	rarement absente	rarement absente	rarement absente
	domestication	cultivé	cultivé	non cultivé	non cultivé

1.1.2. Les phytophages : les pucerons

Les pucerons peuvent occasionner des dégâts importants sur les cultures, et sont donc considérés comme des ravageurs ayant une grande importance économique. Leurs cycles de vie diffèrent d'une espèce à l'autre : certaines espèces sont purement monoéciques et exploitent les mêmes espèces de plantes durant tout leur cycle, tandis que d'autres sont diéciques et exploitent à des générations différentes des hôtes primaires et secondaires. Cette différence dans le cycle de vie implique des différences de comportement de sélection de la plante hôte.

1.1.2.1. Le puceron spécialiste *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus)

Br. brassicae est un ravageur important de la famille des Brassicacées qui peut se reproduire de manière parthénogénétique tout au long de l'année (Blackman et Eastop 2006). Communément appelé le puceron cendré du chou, *Br. brassicae* est un puceron spécialiste de la famille des Brassicacées capable de coloniser presque toutes les espèces de plantes au sein de cette famille (Blackman et Eastop 2006). *Br. brassicae* est monoécique et effectue tout son cycle sur la même famille botanique. D'autre part, *Br. brassicae* séquestre les glucosinolates de ses plantes hôtes et produit sa propre enzyme myrosinase (Blande *et al.*, 2007; Kazana *et al.*, 2007; Bridges *et al.*, 2002; Pontoppidan *et al.*, 2001). Ce puceron spécialiste est soit négativement affecté (Newton *et al.*, 2009; Mewis *et al.*, 2005) soit non affecté par les glucosinolates contenus dans les plantes hôtes (Hopkins *et al.*, 1998). De plus, il semble être attiré par les composés secondaires spécifiques des Brassicacées (Pickett *et al.*, 1992; Nottingham *et al.*, 1991; Pettersson, 1979; Pettersson, 1973; Nault et Styer, 1972).

1.1.2.2. Le puceron généraliste *Myzus persicae* (Sulzer)

M. persicae, communément appelé le puceron vert du pêcher, est un ravageur généraliste. Son hôte primaire est le pêcher mais il peut également s'alimenter sur beaucoup d'espèces et de familles botaniques (plus de 400 espèces (Fenton *et al.*, 1998)) dont les Brassicacées. *M. persicae* est diécique et effectue son cycle sur au moins deux familles botaniques. Dans un agroécosystème avec des plantes hôtes potentielles possédant plus ou moins de défenses, un puceron généraliste tel que *M. persicae* devrait mieux se développer sur des plantes cultivées abondantes, présumées de bonne qualité nutritive et présentant potentiellement moins de défenses que des plantes sauvages. Néanmoins, l'impact des glucosinolates sur ses performances n'est pas clairement établi : certaines études montrent un impact négatif des glucosinolates sur son développement (Kim et Jander, 2007; Mewis *et al.*, 2005), tandis que

d'autres ne montrent pas d'impact particulier (Kusnierczyk *et al.*, 2007; Barth et Jander, 2006). Ce puceron semble choisir ses plantes hôtes sur la base de leur qualité nutritive qui varie en fonction de la composition en acides aminés ou la concentration en sucres (Wearing, 1968). Il est repoussé par les odeurs de plantes non hôtes (Nottingham *et al.*, 1991).

Ces deux espèces de pucerons sont attaquées par de nombreux ennemis naturels dont les larves de coccinelles (*Adalia bipunctata*), les larves de syrphes (*Episyrphus balteatus*) et le parasitoïde *Diaeretiella rapae*.

1.1.3. Le parasitoïde *Diaeretiella rapae* (M'Intosh)

Les ennemis naturels comprennent les prédateurs et les parasitoïdes. A la différence des prédateurs qui tuent immédiatement leurs proies pour s'alimenter, les larves de parasitoïdes tuent progressivement l'hôte au cours de leur développement qui se fait soit à l'intérieur soit à l'extérieur de leurs hôtes. En fonction des espèces, il peut y avoir une ou plusieurs larves de parasitoïdes par hôte.

Les larves de *D. rapae* se développent à l'intérieur de leur hôte de manière solitaire. Cette espèce est capable de parasiter plus de 60 espèces de pucerons dans le monde (Pike *et al.*, 1999). Cependant, elle est plus couramment associée aux pucerons des Brassicacées tels que *Br. brassicae*, *Lipaphis erysimi* ou encore *M. persicae* (Blande, 2004). Après sélection de l'hôte, les femelles parasitoïdes déposent un œuf dans l'abdomen du puceron. La larve passe par quatre stades larvaires dans l'hôte avant de se momifier, pour émerger en un parasitoïde mâle ou femelle, libre à l'état adulte. *D. rapae* semble attiré par les composés secondaires émis par les plantes de la famille des Brassicacées à la suite d'attaques de ravageurs (Pope *et al.*, 2008; Blande *et al.*, 2007; Bradburne et Mithen, 2000; Vaughn *et al.*, 1996; Reed *et al.*, 1995; Titayavan et Altieri, 1990; Read *et al.*, 1970). Il n'est pas attiré par des plantes n'ayant pas subi d'attaque (Reed *et al.*, 1995), ni par du miellat de pucerons (Girling *et al.*, 2006) ni par des pucerons seuls sans plante à proximité (Read *et al.*, 1970). Cette espèce de parasitoïde serait donc "adaptée" aux défenses émises par les plantes et peut être considérée comme une espèce spécialiste des pucerons se développant sur les Brassicacées.

1.2. Les performances des phytophages généralistes, spécialistes et de leurs parasitoïdes varient-elles en fonction des espèces de plantes ?

L'effet « Bottom Up » prédit que les plantes régulent les populations de phytophages en réduisant leurs performances. Plusieurs études montrent que les performances des phytophages généralistes sont réduites sur les Brassicacées présentant des défenses physiques ou des concentrations élevées de composés secondaires (Gols *et al.*, 2008; Agrawal et Kurashige, 2003; Li *et al.*, 2000; Karowe et Schoonhoven, 1992). Toutefois, peu d'études relient les performances des phytophages au caractère cultivé ou non cultivé des plantes et aux différences physiques et chimiques qui en découlent. Or, par rapport aux plantes non cultivées, les plantes cultivées sont censées présenter des concentrations réduites de composés secondaires et une qualité nutritive plus importante, les rendant plus susceptibles aux attaques de phytophages. Le premier objectif de ma thèse est de voir si les différences entre plantes hôtes peuvent entraîner des différences dans les performances des phytophages (voir Chapitre 1, article 1) estimées par le taux intrinsèque d'accroissement naturel des populations.

Les plantes peuvent également avoir un impact de manière indirecte sur les populations d'ennemis naturels. En effet, les défenses chimiques produites par les plantes peuvent réduire non seulement le développement des phytophages, mais aussi celui de leurs ennemis naturels. Un phytophage dont les performances sont réduites constituerait une ressource de mauvaise qualité réduisant le développement de son ennemi naturel (Godfray, 1994). Les défenses des plantes sont donc supposées réduire indirectement, *via* le phytophage, les performances des ennemis naturels (voir Chapitre 1, article 1), et donc le taux de parasitisme et la taille des individus. Dans ce cas, l'impact des ennemis naturels sur les populations de phytophages (effet « Top Down ») serait réduit.

→ Afin de déterminer si les plantes hôtes ont un impact sur le développement d'un phytophage généraliste et de son parasitoïde, les performances de *M. persicae* et *D. rapae* ont été comparées entre *B. napus*, *B. oleracea*, *B. nigra* et *S. arvensis*. La principale originalité de ce travail réside dans la prise en compte du caractère cultivé ou non des plantes hôtes dans l'étude des performances d'un phytophage généraliste et de son principal parasitoïde. L'impact négatif des plantes cultivées sur les phytophages (effet « Bottom Up ») serait plus faible que celui des plantes sauvages. Ainsi, les plantes cultivées *B. napus* et *B. oleracea* sont supposées permettre un meilleur développement de *M. persicae* et *D. rapae*, comparées aux

plantes sauvages *S. arvensis* et *B. nigra* (Figure 3). De plus, les performances du phytophage et du parasitoïde sont supposées être positivement corrélées. En effet, ce puceron est généraliste et il ne séquestre pas les défenses des plantes. Cet article est actuellement soumis à *Annals of Applied Biology*: « *Performance of a generalist herbivore *Myzus persicae* and its endoparasitoid *Diaeretiella rapae* on wild and cultivated Brassicaceae* ».

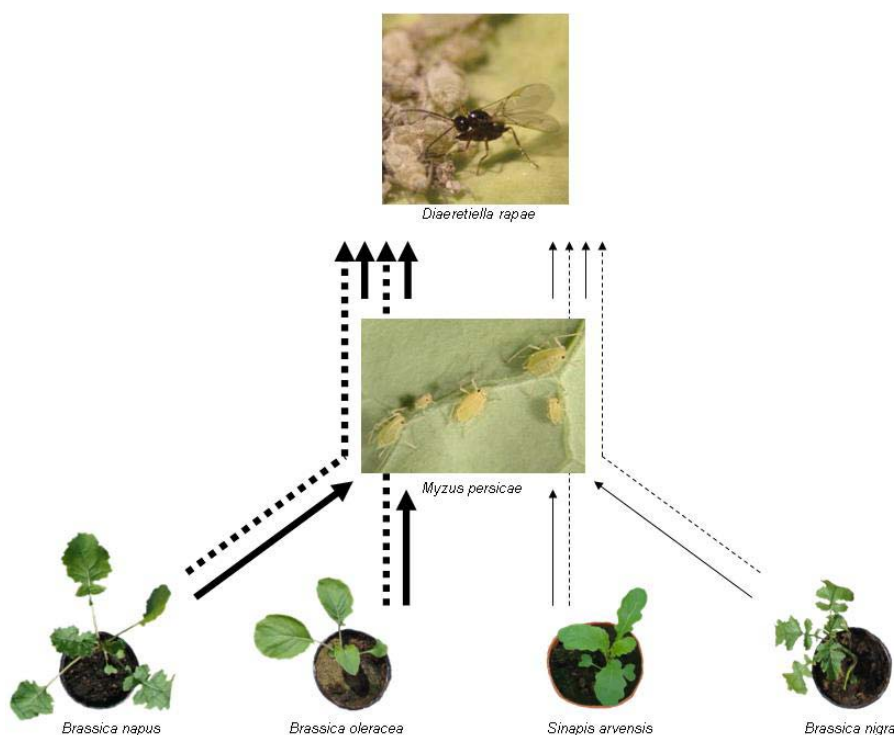


Figure 3: Hypothèse de travail : l'effet « Bottom up » prédit un impact négatif des plantes sauvages sur les phytophages et les parasitoïdes plus important que celui des plantes cultivées. *En traits pleins sont représentés l'impact direct des plantes sur les phytophages, et l'impact direct des phytophages sur les parasitoïdes; en pointillés l'impact indirect des plantes sur les parasitoïdes. Les différences de grosseur des flèches indiquent des différences dans les performances.*

La régulation des populations de phytophages par les plantes hôtes (effet « Bottom Up ») est supposée être influencée par le degré de spécialisation des phytophages. En effet, les défenses des plantes sont supposées réduire de façon plus importante les performances des phytophages généralistes que celles des spécialistes. En effet, ces derniers ont mis en place des stratégies de contournement des défenses telles que l'excrétion, la détoxification ou la séquestration des composés toxiques qui leur permettent de rendre inefficaces les défenses chimiques de la plante. Ainsi, la teigne des crucifères *Plutella xylostella* désulfate grâce à une sulfatase, les glucosinolates en désulfoglucosinolates excrétés dans les fèces (Ratzka *et al.*,

2002). La piéride du chou *Pieris rapae* transforme les composés toxiques produits suite à l'hydrolyse des glucosinolates en composés inoffensifs excrétés dans les fèces grâce à une protéine spécifique (Wittstock *et al.*, 2004). La punaise *Murgantia histrionica* séquestre les glucosinolates dans certaines parties de son corps (Aliabadi *et al.*, 2002) tandis que la tenthrède du navet *Athalia rosae* et les pucerons *Br. brassicae* et *Lipaphis erysimi* les séquestrent dans leur hémolymphe (Kazana *et al.*, 2007; Muller et Arand, 2007; Muller et Sieling, 2006; Muller et Wittstock, 2005; Blande, 2004; Muller *et al.*, 2003; Bridges *et al.*, 2002; Jones *et al.*, 2002; Muller *et al.*, 2001; Pontoppidan *et al.*, 2001). Ces systèmes de détoxification ou d'excrétion des défenses permettent à certains phytophages spécialistes d'avoir des performances équivalentes sur les plantes quelque soient leurs niveaux de défenses (Gols *et al.*, 2007; Bennett et Wallsgrove, 1994; Hopkins *et al.*, 1998). Les défenses des plantes sont donc supposées ne pas réduire les performances des phytophages spécialistes qui séquestrent (Chapitre 1, article 2). Néanmoins, l'impact de la séquestration sur les performances des phytophages spécialistes a été jusqu'à présent très peu abordé (excepté par Cole, 1997).

En lien avec le développement des phytophages spécialistes, les défenses des plantes ne sont pas censées réduire les performances de leurs ennemis naturels. Toutefois, Gols et Harvey (2009) montrent que les parasitoïdes de phytophages spécialistes des Brassicaceae semblent négativement affectés par les défenses des plantes (Barker *et al.*, 2007 mais voir Harvey *et al.*, 2003; Sznajder et Harvey, 2003). Les phytophages spécialistes auraient réussi à détourner les défenses des plantes et les utiliseraient pour se défendre contre leurs ennemis naturels. Ainsi, l'impact négatif des plantes sur les populations de phytophages (effet « Bottom Up ») aurait aussi des répercussions négatives sur les ennemis naturels (effet « Top Down ») dans le cas des phytophages spécialistes. Cependant, la plupart des exemples de détournement des défenses des plantes montrent un impact de la détoxification des défenses par des phytophages spécialistes broyeurs sur les performances de parasitoïdes. Les effets de la séquestration des défenses par des phytophages spécialistes piqueurs-suceurs comme *Br. brassicae* sur les performances de parasitoïdes ont très peu été abordés. Des études ont cependant été réalisées sur les prédateurs, et montrent que les larves de coccinelle d'*Adalia bipunctata* ne survivent pas lorsqu'elles consomment *Br. brassicae* se nourrissant sur une plante présentant des concentrations élevées de GLS (Kazana *et al.*, 2007). De même, les larves de coccinelles et du syrphe *Episyrphus balteatus* survivent moins bien quand elles consomment *Br. brassicae* que lorsqu'elle se nourrissent de *M. persicae* qui ne séquestre pas les GLS (Vanhaelen *et al.*, 2002; Francis *et al.*, 2001; Francis *et al.*, 2000). La séquestration

des GLS par un phytophage spécialiste peut donc être supposée avoir un impact négatif sur les parasitoïdes (effet « Top Down ») (Chapitre 1, article 2).

→ Afin de déterminer si les plantes hôtes peuvent influencer le développement d'un phytophage spécialiste et de son parasitoïde, les performances de *Br. brassicae* et *D. rapae* ont été estimées sur *B. napus*, *B. oleracea*, *B. nigra* et *S. arvensis*. L'originalité de ce travail réside dans l'étude de l'effet de la séquestration par un phytophage spécialiste sur ses propres performances et sur les performances de son principal parasitoïde. Les performances des phytophages spécialistes sont supposées équivalentes sur différentes espèces de plantes ou éventuellement légèrement supérieures sur les plantes cultivées étant donné qu'elles seraient plus nutritives. Toutefois, on suppose que les performances du phytophage et du parasitoïde ne sont pas corrélées, étant donné que ce puceron est un spécialiste et qu'il a mis en place un mécanisme de détournement des défenses. Cette hypothèse découle des résultats obtenus sur l'effet négatif de la séquestration des défenses par les phytophages spécialistes sur les performances de leurs prédateurs. Ainsi, *D. rapae* est supposé mieux se développer sur des pucerons se nourrissant des espèces cultivées *B. napus* et *B. oleracea* que sur les espèces sauvages *S. arvensis* et *B. nigra* (Figure 4). Cet article est paru dans Basic and Applied Ecology "*Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid*", 12, 72-79. (<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1439179110001337>)

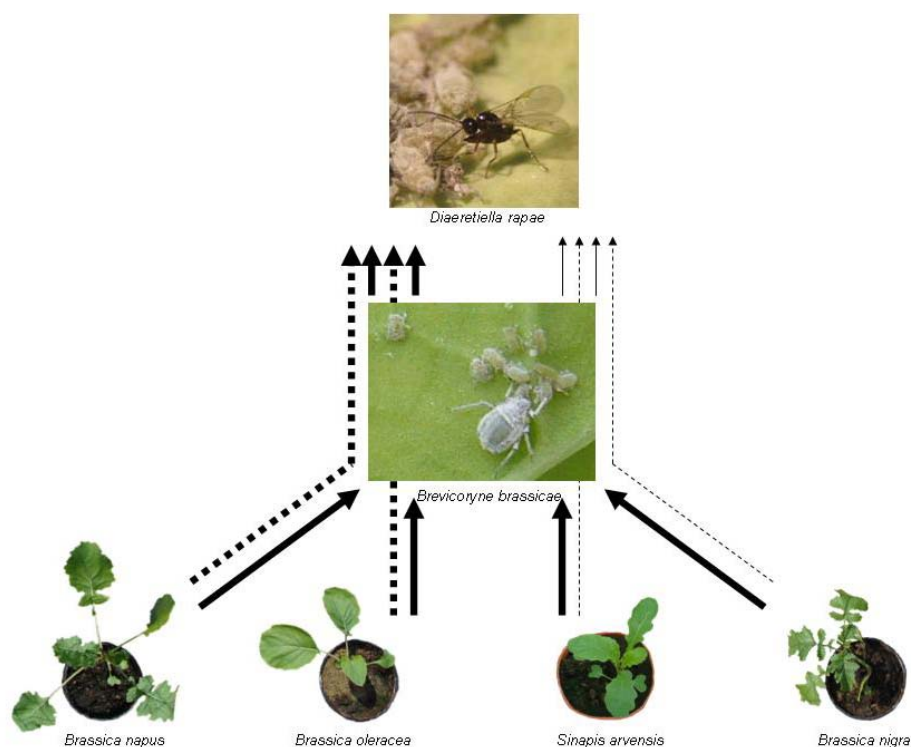


Figure 4: Hypothèse de travail : les performances des phytophages spécialistes sont supposées équivalentes sur des plantes sauvages et des plantes cultivées et l'effet « Bottom up » serait identique . Cependant les performances des parasitoïdes sont supposées être réduites. *En traits pleins sont représentés l'impact direct des plantes sur les phytophages, et l'impact direct des phytophages sur les parasitoïdes; en pointillés l'impact indirect des plantes sur les parasitoïdes. Les différences de grosseur des flèches indiquent des différences dans les performances.*

1.3. Le comportement de choix de la plante par les phytophages généralistes et spécialistes et leurs parasitoïdes peut-il être influencé par l'environnement proche des plantes ?

L'étude de la régulation des populations de phytophages par les plantes tient rarement compte du comportement de choix de la plante hôte. Cependant, les phytophages généralistes évitent de coloniser les plantes présentant des défenses (van Leur *et al.*, 2008; Nault et Styer, 1972). Ainsi, les plantes caractérisées par des concentrations en glucosinolates importantes ne seraient pas colonisées par les phytophages généralistes, ce qui renforcerait l'hypothèse d'un effet « Bottom Up » plus important qu'un effet « Top Down » dans la régulation des populations de phytophages généralistes.

D'autre part, outre la non-réduction des performances des phytophages spécialistes sur les plantes présentant des GLS, les composés chimiques des Brassicacées peuvent attirer les phytophages spécialistes de la famille des Brassicacées (Giamoustaris et Mithen, 1995;

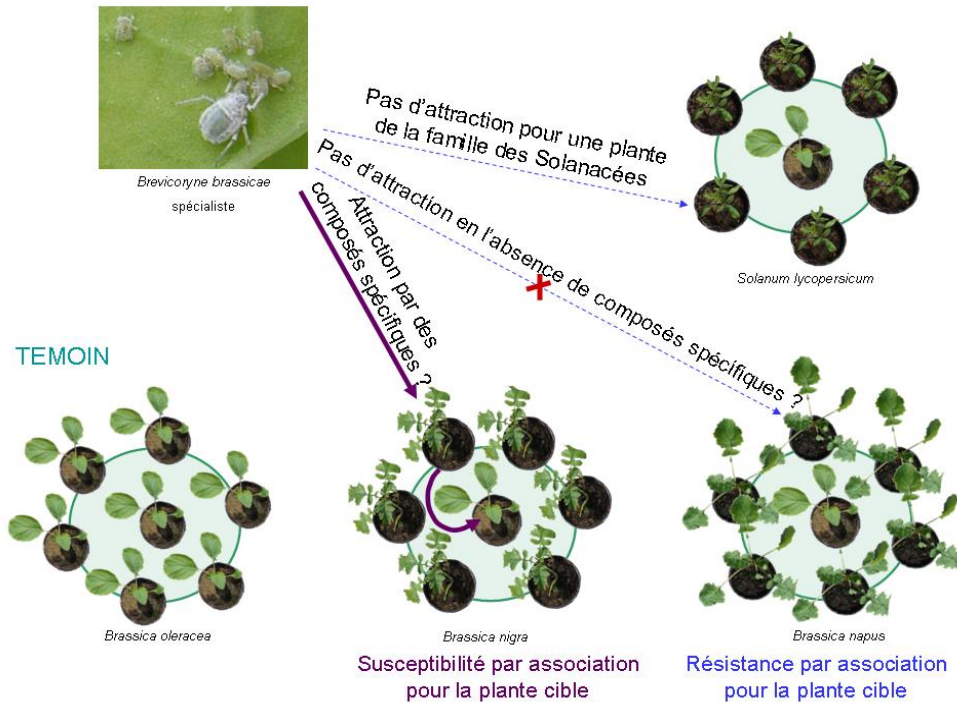
Stadler, 1978). Par exemple, les GLS constitutifs (comme la sinigrine et la glucobrassicine) sont des composés qui stimulent l'alimentation et l'oviposition du puceron cendré du chou *Br. brassicae* (Gabrys et Tjallingii, 2002; Nault et Styer, 1972) et de la mouche du chou *Delia radicum* (Gouinguene et Stadler, 2006; Birch *et al.*, 1992). Etant donné que les défenses des plantes ne semblent pas affecter les phytophages spécialistes, nous pouvons supposer un impact faible de l'effet « Bottom Up » des plantes sur la régulation des populations de phytophages spécialistes.

Toutefois, l'environnement immédiat des Brassicacées et la présence de plantes voisines peuvent avoir un impact sur la colonisation des plantes hôtes par les phytophages généralistes et spécialistes. Par exemple, Tahvanainen et Root (1972) sont les premiers à avoir émis l'hypothèse que les composés chimiques des plantes de la famille des Solanacées pouvaient limiter la capacité des phytophages spécialistes des Brassicacées (tels que les altises) à trouver leurs plantes hôtes. D'autre part, des plantes voisines attractives peuvent agir comme des plantes pièges et limiter la colonisation des plantes cibles par des phytophages spécialistes des Brassicacées tels que *Meligethes aeneus* (Hokkanen *et al.*, 1986), *Plutella xylostella* (Shelton et Nault, 2004) et *Psylliodes chrysocephala* (Barari *et al.*, 2005). La colonisation des plantes ne dépend donc pas seulement des défenses individuelles des plantes mais également de celles de leurs plantes voisines. Plusieurs études ont déjà montré ces phénomènes de résistance ou de susceptibilité par association pour une plante cible en fonction des plantes voisines (Barbosa *et al.*, 2009). Toutefois, ces études ne comparent pas dans les mêmes conditions expérimentales le choix de phytophages caractérisés par un degré de spécialisation différent. Or, le comportement de choix des phytophages est fortement lié à leur caractère généraliste ou spécialiste. La présence de plantes voisines est donc supposée avoir un impact différent sur la colonisation d'une plante cible par des phytophages en fonction de leur degré de spécialisation (voir Chapitre 2, article 1).

→ Afin de tester l'impact des plantes de l'environnement sur le choix de phytophages généralistes et spécialistes pour une plante hôte, nous avons quantifié la colonisation d'une espèce de plante cible (*B. oleracea*) par les phytophages *Br. brassicae* et *M. persicae* en fonction de différentes espèces de plantes voisines (*B. oleracea*, *B. napus*, *B. nigra* ou *S. lycopersicum*). L'originalité de cette partie réside dans la mise en évidence de la résistance par association pour une plante cible en présence de plantes voisines, en lien avec le degré de spécialisation des phytophages. Les plantes voisines riches en composés secondaires spécifiques sont supposées accroître la colonisation des plantes cibles par attraction des

phytophages spécialistes (Figure 5a) et réduire la colonisation des plantes cibles par répulsion des phytophages généralistes. De plus, la qualité nutritive (teneur en sucres, acides aminés...) des plantes voisines pourrait également favoriser l'installation des colonies de phytophages généralistes (voir Figure 5b). Néanmoins ayant peu de données sur la qualité nutritive des plantes, cet aspect sera peu développé. Cet article est en cours de révision pour *Oecologia* « *Neighbourhood of Brassicaceae host plants influences colonization by specialist and generalist aphids* ».

a.



b.

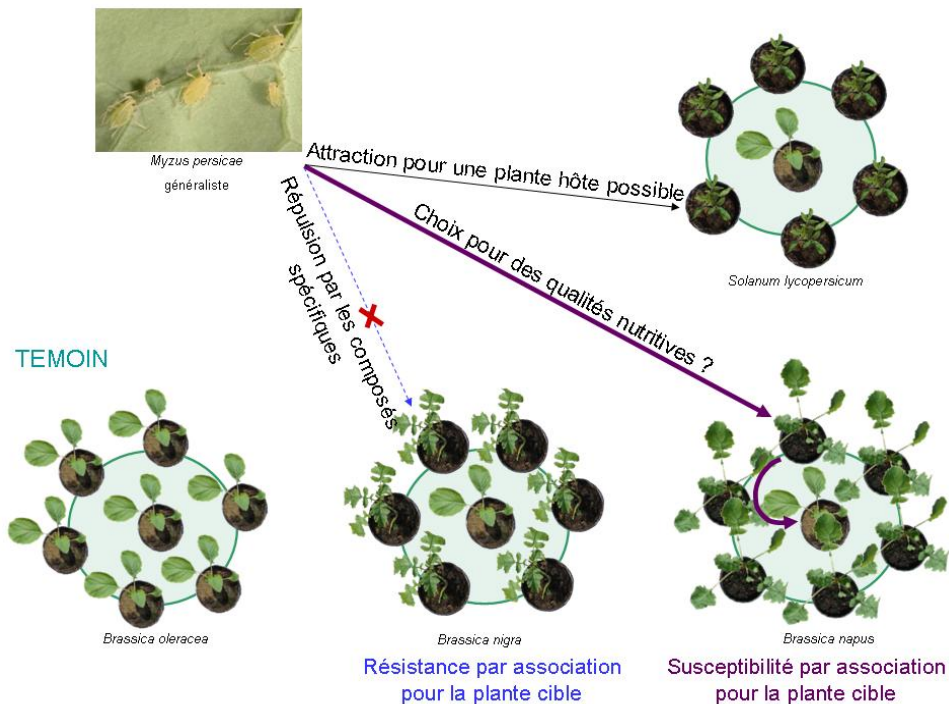


Figure 5: Hypothèse de travail : Les plantes voisines produisant ou émettant des composés spécifiques peuvent attirer les pucerons spécialistes qui vont ensuite passer sur la plante cible (a.) et conduire à de la susceptibilité par association. En revanche, les plantes voisines produisant ou émettant des composés spécifiques sont supposées repousser les pucerons généralistes (b.) et conduire à de la résistance par association par répulsion pour la plante cible. Les qualités nutritives (teneur en sucres, en acides aminés...) de certaines plantes pourraient également favoriser l'installation des colonies de pucerons généralistes et conduire à de la susceptibilité par association (b.). *Les flèches en traits pleins indiquent une colonisation préférentielle des phytophages par rapport à la modalité témoin constituée de B. oleracea entouré par B. oleracea. Les flèches en traits pointillés indiquent une absence d'attraction ou une répulsion.*

Les plantes possédant des composés secondaires peuvent également répondre à l'attaque de phytophages en attirant les ennemis naturels. L'effet « Bottom Up » des plantes sur les ennemis naturels peut indirectement renforcer l'effet « Top Down » des ennemis naturels sur les phytophages. Les ennemis naturels des phytophages de Brassicacées sont principalement attirés par des composés volatils (comme les allyl-isothiocyanates). Plusieurs auteurs ont déjà mis en évidence une attraction des parasitoïdes comme *Diadegma semiclausum* (Bukovinszky *et al.*, 2005), *Cotesia glomerata* (Mattiacci *et al.*, 1994), et *Diaeretiella rapae* (Girling *et al.*, 2006; Reed *et al.*, 1995) par des plantes attaquées de la famille des Brassicacées. Ainsi, la présence de plantes voisines attaquées pourrait augmenter l'impact des ennemis naturels sur les populations de phytophages de la plante cible (effet « Top Down »).

De plus, même si les plantes semblent attirer les parasitoïdes lorsqu'elles sont attaquées par des phytophages, certaines études montrent que les parasitoïdes peuvent également être attirés par des plantes voisines saines et ensuite passer sur les plantes cibles (Bukovinszky *et al.*, 2007; Gols *et al.*, 2005). Toutefois, ces études ne quantifient pas le taux de parasitisme des phytophages sur les plantes cibles. Actuellement, aucune étude ne montre l'impact de plantes voisines sur le comportement des parasitoïdes, ni sur le taux de parasitisme des phytophages qui se nourrissent sur les plantes cibles. Le principal but de cette partie est de tester l'influence éventuelle des plantes voisines saines ou infestées sur le taux de parasitisme des phytophages de la plante cible (Chapitre 2, article 2).

→ Afin de déterminer si la présence de plantes voisines peut influencer le choix d'un parasitoïde pour un complexe plante-phytophage, le taux de parasitisme des phytophages sur la plante cible a été estimé. L'originalité de cette partie réside dans l'étude de la résistance par association pour une plante cible *via* l'attraction des ennemis naturels pour les plantes

voisines, saines ou infestées, et dans la compréhension des mécanismes de résistance par association. Les plantes voisines sauvages telles que *B. nigra* sont supposées être plus attractives pour *D. rapae* car elles peuvent émettre des composés chimiques secondaires tels que les allyl-isothiocyanates suite aux dégâts de phytophages, ce qui devrait conduire à un taux de parasitisme plus important sur la plante cible (Figure 6) si le parasitoïde passe d'une plante à l'autre. Au contraire, les plantes cultivées telles que *B. napus* et *S. lycopersicum*, n'émettant pas d'allyl-isothiocyanates, sont supposées ne pas être attractives. Cet article est actuellement en préparation pour Oikos « *Associational resistance against a specialist aphid by attraction of a parasitoid to the neighbouring host plants* ».

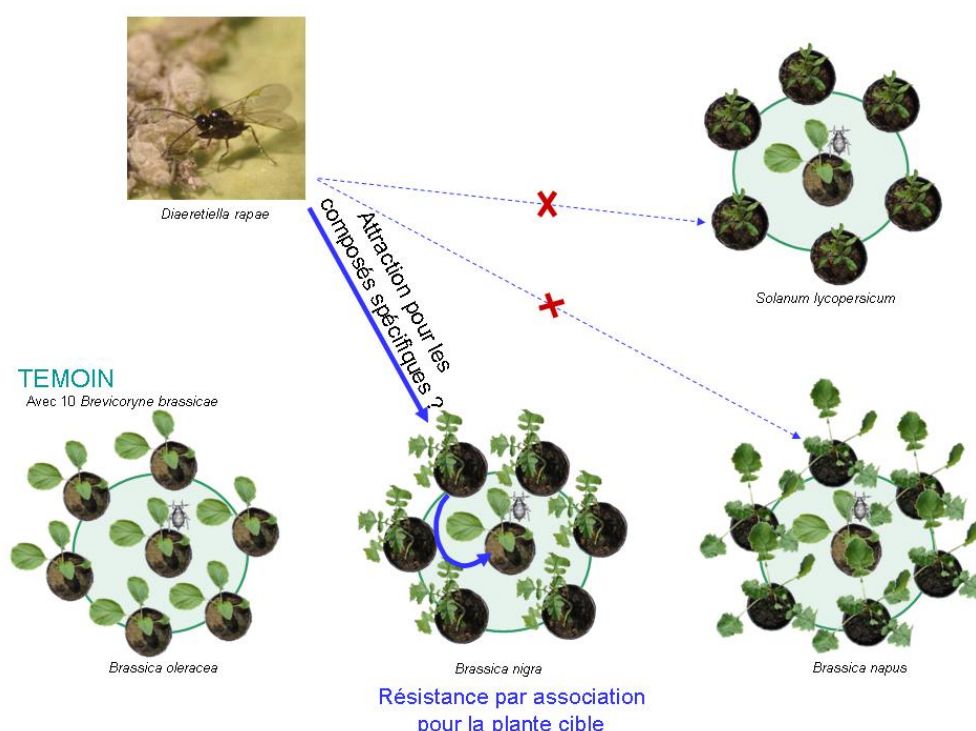


Figure 6: Hypothèse de travail : les plantes voisines pourraient influencer le taux de parasitisme des phytophages présents sur la plante cible (effet « Top Down »). Les flèches en traits pleins représentent le choix supposé préférentiel des parasitoïdes et donc un taux de parasitisme des phytophages de la plante cible plus importants par rapport à la modalité témoin constituée de *B. oleracea* entouré par *B. oleracea*. Les flèches en traits pointillés indiquent une absence d'attraction.

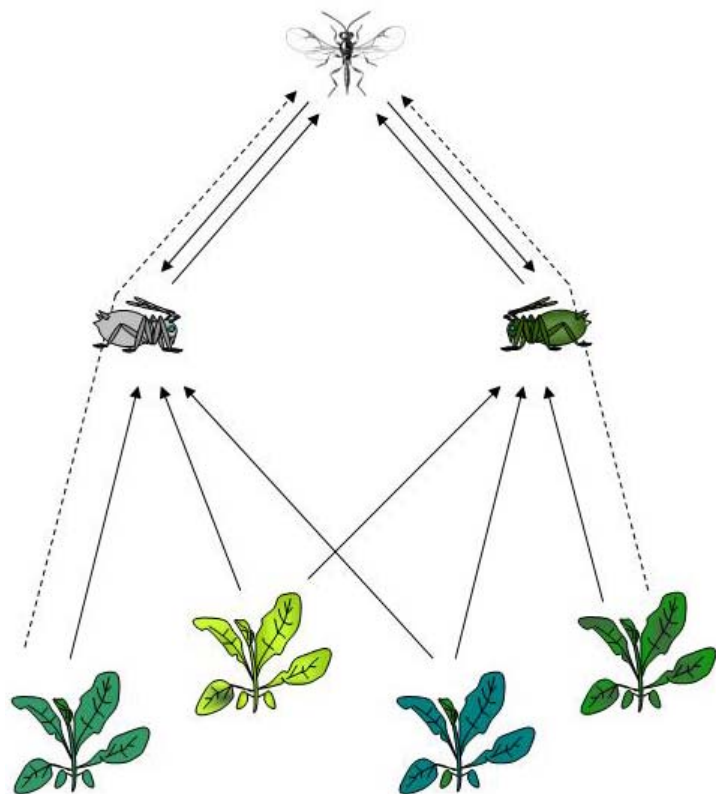
1.4. Les différences de performances et de préférences des phytophages généralistes et spécialistes et de leurs parasitoïdes peuvent-elles entraîner une structuration génétique des populations par espèces de plantes hôtes?

Des différences dans les préférences et/ou les performances des phytophages en lien avec les caractéristiques nutritives ou défensives des diverses espèces de Brassicacées pourraient conduire à une structuration des populations de phytophages (voir Chapitre 3). Par exemple, Toneatto *et al.* (2010) montrent que les populations de phytophages spécialistes *Phyllotreta nemorum* se développant sur des lignées de *Barbarea vulgaris* caractérisées des concentrations et des compositions en glucosinolates différentes, sont génétiquement différentes. De plus, une structuration génétique des populations de parasitoïdes peut également être supposée en relation avec les caractéristiques de défenses des plantes (voir Chapitre 3). Toutefois, à notre connaissance, aucune étude ne montre clairement une structuration génétique des populations de parasitoïdes en relation avec les plantes hôtes.

→ Nous avons recherché l'existence d'une structuration génétique des populations de phytophage spécialiste *Br. brassicae* et du parasitoïde *D. rapae* en lien avec les plantes. Trois types de structuration ont été envisagés : (i) une structuration des populations en relation avec les plantes hôtes, (ii) une structuration spatiale en lien avec les sites d'échantillonnage, et (iii) une structuration temporelle en lien avec les dates d'échantillonnage et la phénologie des plantes. Concernant les populations de parasitoïdes, un autre type de structuration des populations en lien avec le génotype des pucerons a aussi été recherchée. L'originalité de ce chapitre réside dans l'étude de la structuration génétique des populations de phytophages et de parasitoïdes en lien avec les plantes. Cette partie sera présentée sous forme d'un chapitre en français, et fera l'objet d'un article après acquisition de données génétiques complémentaires.

Chapitre 1

Performances du phytophage spécialiste *Brevicoryne brassicae* et du phytophage généraliste *Myzus persicae*, et de leur parasitoïde commun *Diaeretiella rapae* sur différentes espèces de plantes



Chapitre 1: Performances du phytophage spécialiste *Brevicoryne brassicae* et du phytophage généraliste *Myzus persicae*, et de leur parasitoïde commun *Diaeretiella rapae* sur différentes plantes hôtes

Article 1 : Mesure des performances d'un puceron généraliste *Myzus persicae* et de son parasitoïde *Diaeretiella rapae* sur des Brassicacées sauvages et cultivées
Article soumis à *Annals of Applied Biology*

Auteurs : Pauline Le Guigo, Aurore Maingueneau, Josiane Le Corff

Objectifs : Déterminer l'impact des espèces de plantes cultivées ou sauvages sur les performances d'un phytophage et d'un parasitoïde. Etudier la relation entre les performances d'un parasitoïde et celles de son hôte.

Résumé et intérêt de l'étude : Les agroécosystèmes se caractérisent par la présence de plantes cultivées et de plantes sauvages possédant des caractéristiques morphologiques, phénologiques, chimiques et physiques différentes. L'impact du caractère cultivé ou non des plantes sur les performances des phytophages et des ennemis naturels a pourtant reçu peu d'attention. La domestication des plantes a conduit à des espèces de plantes cultivées possédant des qualités nutritives plus grandes et des niveaux de défenses physiques et chimiques réduits. Les performances des phytophages généralistes et de leurs ennemis naturels sont donc supposées être accrues sur les plantes cultivées.

Afin de tester si les performances d'un puceron généraliste *Myzus persicae* et de son parasitoïde *Diaeretiella rapae* diffèrent lorsqu'ils se nourrissent sur les plantes cultivées ou sauvages, leurs performances (taille, poids, durée de vie, de développement, fécondité, mortalité...) ont été mesurés sur deux espèces de plantes cultivées *B. oleracea* et *B. napus* et sur deux espèces sauvages *B. nigra* et *S. arvensis*. Les performances des phytophages généralistes et des parasitoïdes sont supposées être réduites sur *B. nigra* et *S. arvensis*, et leurs performances sont censées être en relation.

Le taux de croissance des populations de *M. persicae* est réduit sur *B. napus*. De plus, les performances du parasitoïde ne sont pas liées à celles du puceron étant donné que les mâles ont une durée de développement réduite et les femelles une taille plus importante sur *B. napus*. Toutefois, la taille des parasitoïdes mâles accrue sur *S. arvensis* pourrait être en lien avec le poids important de *M. persicae* sur *S. arvensis*.

En conclusion, les plantes cultivées n'augmentent pas les performances de ce phytophage généraliste et de son parasitoïde. De plus, les performances des parasitoïdes ne sont pas directement liées à celles de leurs hôtes. Plus d'études sur les systèmes tritrophiques sont nécessaires pour comprendre l'importance relative des plantes cultivées et non cultivées sur les populations de phytophage et d'ennemi naturel.

2. Performance of a generalist herbivore *Myzus persicae* and its endoparasitoid *Diaeretiella rapae* on wild and cultivated Brassicaceae

2.1. Abstract

In agroecosystems, wild relatives of cultivated species grow along roadsides, field margins, and fallows. The impact of these non-cultivated plants on the population dynamics of herbivores and natural enemies has received little attention. To determine to what extent crop related wild species may serve as refuges for insect pests and their natural enemies, we investigated the suitability of cultivated and non-cultivated Brassicaceae for a generalist aphid *Myzus persicae* and its main parasitoid *Diaeretiella rapae*. We compared the performance of *M. persicae* (measured as population growth rate) and *D. rapae* (estimated as parasitism rate, larval survival and development time, adult longevity and size) on one cultivar of *Brassica napus* and *B. oleracea*, two wild species *B. nigra* and *Sinapis arvensis*, and one cultivar of *Solanum lycopersicum* as a potential non-Brassicaceae cultivated host plant. In contrast with our initial hypothesis, *M. persicae* did not perform better on the cultivated species. On the Brassicaceae, its population growth rate was significantly smaller on *B. napus*. Similarly, the performance of the parasitoid was affected by the host plant on which the aphid was feeding. However, in opposite with the aphid host, male parasitoids developed faster and females were larger on *B. napus*. The recent introduction of *B. napus* as a crop might have had consequences on both the herbivore and its parasitoid. More work on cultivated and wild related plant species is needed to gain insights into the strength of bottom-up versus top-down factors on pest populations in changing agricultural landscapes.

Keywords Tritrophic interaction, weed, aphid, parasitoid, *Brassica*

2.2. Introduction

In agroecosystems, landscape composition and structure may influence the diversity of insect communities (Tscharntke & Brandl, 2004). In particular, the spatial and temporal distribution of cultivated and non-cultivated areas may have an impact on the distribution and dynamics of insect populations, depending on their capacity to disperse through the landscape, their adaptation to use ephemeral habitats, and their degree of host specialization (Kruess & Tscharntke, 1994; Vialatte *et al.*, 2005). For example, at the landscape level, insects may use various non-crop areas as overwintering or diapause sites, reproduction zones, or alternative sources of food and hosts when crops have been harvested (see Bianchi *et al.*, 2006 for review). Non-cultivated areas with annual and perennial vegetation may thus provide resources for herbivores and their natural enemies.

Wild relatives of many crop plant species grow along roadsides, field margins, and fallows. The impact of these plants on the dynamics of insect populations has received little attention, whereas they may be hosts of a number of pests and natural enemies (Harvey & Wagenaar, 2006). However, movements of herbivores and parasitoids between cultivated and wild relatives imply that insects can colonize and develop on plants with potentially contrasting characteristics. Crop domestication has enlarged plant structures of economical importance such as roots, leaves and fruits (Evans, 1993), reduced physical and chemical defences (Slansky & Feeny, 1977; Sotelo *et al.*, 1995; Massei & Hartley, 2000), and increased nutritional content (Mondolot *et al.*, 2008). As a consequence, differences between cultivated and wild plant species may be large enough to affect plant-herbivore interactions. For example, larvae of the pod-borer *Helicoverpa armigera* preferred to feed on pods of a cultivated *Cajanus* species than on those of a wild pigeonpea species. Pods of the cultivated species lacked trichomes and presented compounds that stimulated feeding (Green *et al.*, 2002). Thus, changes in plant characteristics in cultivated species may favour insect pests and decrease the strength of bottom-up factors on herbivore populations.

On the other hand, changes in plant characteristics due to crop domestication may also accelerate herbivore development and reproduction, allowing them to quickly escape parasitism (Clancy & Price, 1987). However, a parasitoid indirectly derives nutrition from the host plant via the herbivore and differences in plant characteristics between cultivated and wild relatives can also have an impact on parasitoid development (Benrey *et al.*, 1998). As a consequence, crop domestication may indirectly affect herbivore abundance by increasing the

strength of top-down factors. For example, bruchid beetles experienced greater parasitism when feeding on seeds of a cultivated *Phaseolus* than on wild beans (Campan & Benrey, 2004). It was hypothesized that larvae were easier to find due to larger size and density in the seeds of the cultivated species (Campan & Benrey, 2004). Similarly, Sétamou and colleagues observed that survival and progeny size of the parasitoid *Cotesia flavipes* were higher when its host was feeding on cultivated Poaceae than on wild species (Sétamou *et al.*, 2005). Differences in levels of secondary compounds, physical defences, and nutrient contents were advocated to explain such differences, but mechanisms were not clearly identified. Parasitoid fitness is indeed influenced by many factors derived from the plant and from the herbivore. Only a few studies have clearly shown that the strength of top-down factors is affected by changes in plant characteristics after domestication when enlarged fruit structures give herbivores the possibility to escape parasitism (Chen & Walter, 2007; Wang *et al.*, 2009). In most cases, the relative influence of the herbivore larva versus the host plant on the parasitoid fitness is poorly understood. It is particularly true when cultivated species differ from non-cultivated species in the levels of physical and/or chemical defences.

In agroecosystems, Brassicaceae crops have many wild relatives growing in non-cultivated areas or as weeds in cultivated fields. Cultivated and wild Brassicaceae differ in a number of traits associated with plant morphology and chemical defences (Slansky & Feeny, 1977; Cole, 1997; Harvey *et al.*, 2003; Gols *et al.*, 2008). In particular, Brassicaceae crops usually present lower concentrations of glucosinolates (hereafter GLS), a well-characterized group of plant secondary compounds. After damage of plant tissue by herbivores, GLS are broken down into a number of compounds potentially toxic to many insects (see Hopkins *et al.*, 2009 for review). Consequently, cultivated plants are considered to be less well-defended than their wild relatives and more susceptible to attack by insect herbivores. As a result, bottom-up factors are expected to play a minor role on pest populations, especially for generalist herbivores which are affected negatively by GLS and develop better on cultivated species. For example, time from egg to adult was significantly shorter for *Spodoptera exigua* (Sznajder & Harvey, 2003), and adult body mass of *Mamestra brassicae* was larger on different cabbage cultivars than on wild relatives (Gols *et al.*, 2008). Moreover, specialist and generalist parasitoids may be affected positively when their hosts feed on cultivated species: development time was shorter (Benrey *et al.*, 1998; Sznajder & Harvey, 2003; Harvey & Wagenaar, 2006; Gols *et al.*, 2008), survival was higher (Benrey *et al.*, 1998; Harvey *et al.*, 2003; Gols *et al.*, 2008; Kahuthia-Gathu *et al.*, 2008), and the emerging parasitoids were larger (Benrey *et al.*, 1998; Harvey *et al.*, 2003; Sznajder & Harvey, 2003; Gols *et al.*, 2008).

on cultivated than on wild Brassicaceae. However, if these differences translate into stronger top-down regulation of herbivore populations on cultivated plant species has not been clarified. Furthermore, all these observations have been conducted on caterpillars and their parasitoids. Little is known about the effect of plant characteristics on the performance of aphids and their natural enemies even though many aphids have become serious pests and strategies of biocontrol are clearly needed. The impact of Brassicaceae plant characteristics on aphid behaviour and physiology still raises a number of questions, as aphids are phloem-feeders that cause little tissue damage to their host plants (de Vos *et al.*, 2007). Moreover, to our knowledge, the relative importance of bottom-up versus top-down factors has not been investigated on different host plant species. Only Newton and colleagues provide some evidence for bottom-up (and not top-down) regulation of a specialist aphid in wild populations of *B. oleracea* that differ in GLS profiles (Newton *et al.*, 2009).

As part of a research project on tritrophic interactions in the Brassicaceae, we investigated the suitability of cultivated and non-cultivated host plant species for the green peach aphid *Myzus persicae* (Sulzer) (Aphididae: Aphidinae), and for its common parasitoid, *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Aphididae). We hypothesized that as a result of domestication, cultivated plants would provide a higher quality resource for both the aphid and its parasitoid. We selected one cultivar of *Brassica napus* L. and *B. oleracea* L., and two wild species *B. nigra* L. and *Sinapis arvensis* L. As *M. persicae* naturally colonizes plants of many families, we selected another potential cultivated host plant species, *Solanum lycopersicum* (Solanaceae). We addressed the following questions: *i*) Is the performance (measured as population growth rate) of *M. persicae* higher on cultivated species?, *ii*) Is the performance (estimated as parasitism rate, larval survival and development time, adult longevity and size) of *D. rapae* higher when its host feeds on cultivated species?, and *iii*) Does the strength of bottom-up versus top-down factors on aphid population differ between cultivated and non-cultivated species? We expected *B. napus* and *B. oleracea* to be more suitable for the development of *M. persicae* and *D. rapae*, compared to *B. nigra* and *S. arvensis*. We also expected *So. lycopersicum* to be suitable for the development of *M. persicae* but not of *D. rapae*, as this parasitoid is considered to be a specialist of aphids feeding on Brassicaceae (Blande *et al.*, 2004).

2.3. Materials and methods

2.3.1. Plant and insect biology

The two wild species *B. nigra* and *S. arvensis* are encountered along roadsides and field margins throughout the year. Both species are ruderals with locally abundant populations. Seeds germinate in the fall and plants start flowering the following spring. Of the two cultivated species, *B. napus* has become a major crop in the western part of France in the past 30 years (Agreste, 2010). *B. napus* is sown in October and harvested in July. The other cultivated species *B. oleracea* is present at low density all year long with three peaks of production. It has been cultivated for over 100 years in the Loire valley as a source of proteins for cattle (Agreste, 2010).

All species are annual but they differ in the nature and levels of physical and chemical defences (Le Guigo *et al.*, 2011). *B. nigra* and *S. arvensis* are well-defended wild species. Their leaves are covered with trichomes and these species are rich in GLS. Concentrations of GLS in *B. nigra* (approximately 50 $\mu\text{moles g}^{-1}$ dry mass) are three times higher than in *S. arvensis* and 10 times higher than in the two cultivated Brassicaceae (Le Guigo *et al.*, 2011). Concentrations in *B. oleracea* and *B. napus* are very similar and relatively low (approximately 5 $\mu\text{moles g}^{-1}$ dry mass). These two cultivars present tougher leaves than the wild species (Le Guigo *et al.*, 2011). Leaves of *So. lycopersicum* are also covered with trichomes, and this species is rich in alkaloids toxic for many insects (Osier *et al.*, 1996).

M. persicae, commonly known as the green peach aphid or the peach-potato aphid, is highly polyphagous. This aphid is heteroecious and alternates between its primary host *Prunus persica* L. (Rosaceae) and many herbaceous secondary hosts including plants in the Brassicaceae and Solanaceae families. It is attacked by a variety of natural enemies, in particular the endoparasitoid *D. rapae* (Bukovinszky *et al.*, 2008). *D. rapae* has been recorded from more than 60 aphid host species worldwide (Pike *et al.*, 1999). However, it is most commonly associated with aphids feeding on Brassicaceae such as *Brevicoryne brassicae* and *Lipaphis erysimi* (Blande *et al.*, 2004).

2.3.2. Plant and insect cultures

Seeds of *B. nigra* and *S. arvensis* were collected from feral populations around the city of Angers (47°28' N, 1°27' E - France) in 2007. Seeds of the three cultivars, *B. oleracea* variety *acephala* cv. Bonanza, *B. napus* cv. 'NK Bravour', and *So. lycopersicum* cv. 'Saint Pierre'

were provided respectively by Baumaux Seeds in Nancy, the technical Centre for Oilseed crops (CETIOM) in Rennes, and Jardiland in Angers (France).

All plants were grown from seeds in 14-cm-Ø pots containing a potting substrate consisting of peat (80%), clay (10%), and Perlite (10%). Plants were grown between March and July 2009 in a greenhouse compartment at AGROCAMPUS OUEST (Angers), maintained at 22 ± 8 °C and 40-80 % r.h. under natural light. Plants were watered daily. All plants had four to five fully expanded true leaves (approximately after 30-35 days) at the beginning of the experiments.

M. persicae was collected in 2009 near Angers on *B. napus*, *B. oleracea*, *B. nigra*, and *S. arvensis*. Stock colonies were maintained for at least 10 generations on each host plant before the beginning of the experiments, in a climate chamber kept at 18 ± 1 °C, 70 ± 10 % r.h., and with a 16 h L:8 h D photoperiod. The parasitoid *D. rapae* was originally collected in 2005 from cabbage fields around Angers. It had been reared for several generations on *B. oleracea* infested with *Br. brassicae* in a growth chamber in the same environmental conditions as the aphids. Adults were provided *ad libitum* with a 5% honey solution and a mixture of pollen, honey and yeast. Field collected parasitoids were added to the stock colonies every year to maintain genetic diversity.

2.3.3. Development of *Myzus persicae* on different host plant species

In this experiment, the aphids originated from the populations maintained on *B. oleracea* as we were interested in measuring their performance on plant species on which they had not had the possibility to adapt. To determine whether *M. persicae* performed better on cultivated species, measurements of aphid development were conducted as follows (similar experimental design as in Le Guigo *et al.*, 2011). Thirty plants per species were brought from the greenhouse and randomized within a climate chamber at 18 ± 1 °C, 70% r.h., and 16 h light. Each plant was enclosed in a perforated cellulosic bag. After a 2-day acclimation period, one L4 nymph of *M. persicae* reared on *B. oleracea* was placed on the fourth true leaf of each plant. After it had produced its first larva, it was left untouched for 24 hours. The adult was then removed. The developmental stage of the nymphs was recorded daily to estimate nymph mortality and the pre-reproductive period. When all nymphs had developed into adults, their morph (winged or wingless) was recorded and their biomass was estimated with a high precision microbalance (Precisa 92SM-202A, Servilab, Le Mans, France, 10^{-5} g).

The last nymph to become an adult was kept on the host plant until its death. These aphids were used to determine longevity, total fecundity, and the intrinsic rate of increase r_m as an estimate of fitness (Birch 1948). The variance of r_m was estimated with the DEMP program (Giordanengo 2009).

2.3.4. Development of *D. rapae* on different host plants

In this experiment, the parasitoid had no direct contact with the host plant. To determine whether the performance of the parasitoid *D. rapae* was indirectly affected by the aphid host plant, we compared parasitism rate for *M. persicae* feeding on *B. napus*, *B. oleracea*, *B. nigra* or *S. arvensis* (as in Le Guigo *et al.*, 2011). These aphids originated from the populations maintained on each plant species as we were interested in measuring the performance of *D. rapae* on aphids that had potentially adapted to their host plants. Thirty plants per species were brought from the greenhouse to the same growth chamber as described earlier. Mated, 1-day-old, fed and naïve female parasitoids were exposed to 12 L2 aphids, one at a time, in a 6-cm-Ø plastic Petri dish. Each aphid was removed after it had been stung once by the parasitoid, and placed back on its respective host plant. After five days, half of them (six or less if some aphids had died) were dissected. The number of aphids containing a parasitoid larva was recorded. The other half (if possible six aphids) was kept on the host plant until mummies were formed. After approximately 10 days, the number of mummies and aphids were counted on each host plant. To estimate parasitoid development time, survival to adulthood, longevity and size of the resulting adults, mummies were then removed from the plants and kept in small vials until adult eclosion. The adult parasitoids were sexed and fed with a honey solution until their death. Mortality of the parasitoids was recorded daily. The size (as a proxy of fitness) was estimated by measuring hind tibia length using a 5-× magnification lens and the Metaview © program.

2.3.5. Statistical analysis

To compare aphid performance on different host plant species, Generalized Linear Models (GLM) were used to analyze non-nested data calculated for each aphid (number of nymphs, aphid longevity and total fecundity). To compare the other life-history traits, data were nested per plant and measurements from all aphids feeding on one plant or all offspring from one female parasitoid were analyzed with Generalized Estimating Equations (GEE). All computations were done with R version 2.7.1.

Analyses were performed with different distributions: number of nymphs and aphid fecundity were analyzed assuming a Poisson distribution and a log link function for count data; nymph mortality, parasitism rate, survival, and sex ratio with a Binomial distribution and a logit link function for binary data; pre-reproductive period, development time, and longevity with a Gamma distribution and an inverse link function for data expressed in days. Finally, aphid biomass, the intrinsic rate of increase r_m , and parasitoid size were analyzed assuming a Gaussian distribution with an identity link for data with a normal distribution. Over-dispersed data were corrected with a quasi-function distribution.

2.4. Results

2.4.1. Development of *M. persicae* on different host plant species

Most larval and adult life-history traits of *M. persicae* did not differ significantly between *B. napus*, *B. oleracea*, *B. nigra*, and *S. arvensis* (N = 117 host plants and $P > \alpha_{0.05/6} = 0.008$ for all pairwise comparisons between Brassicaceae species). Host plant species did not have an effect on the total number of nymphs laid in 24 hrs (mean \pm SE = 4.55 ± 0.24 nymphs), nymph mortality ($16 \pm 2\%$ of the larvae died before adulthood), and total adult fecundity (52.23 ± 2.26 larvae). All adults were apterous. However, plant species had a significant effect on the length of the pre-reproductive period (ANOVA, df = 3, $F = 23.43$, $P < 0.001$; Fig. 1a), adult longevity ($F = 13.4$, $P < 0.001$; Fig. 1b), and adult biomass ($F = 27.95$, $P < 0.001$; Fig. 1c). Adults of *M. persicae* were significantly smaller and took more time to reproduce on *B. napus* compared to the other three Brassicaceae species. These differences in life-history traits translated into differences in population growth rates with r_m significantly smaller on *B. napus* ($F = 6.00$, $P < 0.001$; Fig. 1d).

M. persicae performed poorly on *So. lycopersicum*: even though the total number of nymphs laid in 24 hrs did not differ significantly among host plant species ($\chi^2_4 = 7.87$, $P = 0.198$; N = 146 host plants and $P > \alpha_{0.05/10} = 0.005$ for all pairwise comparisons), nymph mortality was on average four times higher on *So. lycopersicum* than on the Brassicaceae ($63 \pm 5\%$; $\chi^2_4 = 76.1$, $P < 0.001$). Compared to the aphid development on the Brassicaceae host plant species, the pre-reproductive period (ANOVA, df = 4, $F = 216$, $P < 0.001$; Fig. 1a) was longer, while total adult fecundity (2.77 ± 0.35 larvae, $F = 107$, $P < 0.001$), longevity ($F = 12.4$, $P < 0.001$; Fig. 1b) and biomass ($F = 152$, $P < 0.001$; Fig. 1c) were significantly lower on *So. lycopersicum*. All these differences in life-history traits translated into a significantly

lower population growth rate on *Solanum* compared to the Brassicaceae plant species ($F = 107$, $P < 0.001$; Fig. 1d).

2.4.2. Development of *D. rapae* on aphids feeding on different host plants

We could not measure performance of *D. rapae* on *So. lycopersicum* as aphid survival was too low. Most life-history traits did not differ significantly among *D. rapae* that parasitized or emerged from aphids feeding on *B. napus*, *B. oleracea*, *B. nigra*, or *S. arvensis*. Parasitism rate estimated as % parasitized aphids after 5 days (mean \pm SE = 45 ± 3 %) or at mummy stage (49 ± 3 %; Fig. 2a), survival rate from egg to adult (86 ± 2 %), sex ratio expressed as % females (46 ± 4 %), and longevity (7.28 ± 0.19 days) of the resulting adults did not differ between plant species ($N = 108$ plants and $P > \alpha_{0.05/6} = 0.008$ for all comparisons between Brassicaceae). Unexpectedly, development time from egg to mummy was shorter on *B. napus* and *S. arvensis* for the male parasitoids (ANOVA, $df = 3$, $F = 8.83$, $P < 0.001$), while differences were not significant for the females ($F = 3.14$, $P = 0.37$; Fig. 2b). Development time from mummy to adult was also shorter on *B. napus* and *B. nigra* for both males ($F = 9.11$, $P < 0.001$) and female parasitoids ($F = 8.96$, $P < 0.001$; Fig. 2c). The resulting female parasitoids were larger when the aphids fed on *B. napus* ($F = 8.87$, $P = 0.03$), while male parasitoids were larger on *S. arvensis* ($F = 9.76$, $P = 0.02$; Fig. 2d).

2.5. Discussion

In contrast with our initial hypothesis, *M. persicae* did not perform better on the two cultivated Brassicaceae species, *B. napus* and *B. oleracea*. Differences in life-history traits translated into differences in population growth rates with r_m significantly smaller on *B. napus* compared to the three other Brassicaceae (Fig. 1d). Moreover, even though *M. persicae* is considered as a generalist aphid feeding on a large number of host plants, its development seemed hampered on *So. lycopersicum* (Fig. 1). Similarly, performance of the parasitoid *D. rapae* was affected by the plant on which its host was feeding. Parasitism rate tended to be higher on *B. napus* and *B. oleracea* (Fig. 2a). Male development time from egg to mummy and from mummy to adult was shorter on *B. napus* (Fig. 2b and 2c), and female parasitoids were larger on *B. napus* (Fig. 2d). Thus, in opposite with the results observed for the aphid, *B. napus* seemed a good host plant species for *D. rapae* even though the impact of the plant on the parasitoid fitness was not as clear as for the herbivore. Previous studies have also shown

that parasitoids are less affected than the herbivores by host plant characteristics (Barbosa *et al.*, 1986; Harvey, 2005; Gols & Harvey, 2009; Schädler *et al.*, 2010).

Our results contrast with previous studies that have shown that *M. persicae* develops better on cultivated species, including *B. napus* and *B. oleracea*, compared to the wild species such as *B. nigra*, *B. fruticulosa*, and *B. spinescens* (Cole, 1997). Cole's results indicate a significant negative correlation between the intrinsic growth rate of *M. persicae* and the concentrations of some glucosinolates in *Brassica* species or cultivars. Other authors have observed also a negative impact of plant secondary compounds, in particular GLS or their breakdown products, on population growth rate of *M. persicae*. Insect performance was negatively related to GLS concentrations in *B. oleracea* (van Emden, 1972 cited in Feeny, 1977), *Arabidopsis thaliana* (Mewis *et al.*, 2005; Kim *et al.*, 2008), and *B. oleracea*, *B. napus*, *B. nigra* and *S. alba* (Hodge *et al.*, 2006). In our study, aphid performance did not seem related to the glucosinolate concentrations, as *M. persicae* population growth rate was significantly lower on *B. napus*, the species characterized by the lowest GLS concentrations (Le Guigo *et al.*, 2011). However, differences in GLS profiles might also be important (Kuśnierczyk *et al.*, 2007; Poelman *et al.*, 2009). In our study, *B. napus* and *B. nigra* are rich in aliphatic GLS, and *S. arvensis* contains mostly one aromatic GLS (G. Guéritaine and J. Le Corff, unpublished data). Thus, we could have expected the lowest aphid population growth rate on *B. oleracea* because this cultivar is characterized by the presence of indole GLS, known to be particularly toxic to phloem-feeding insects (Kim *et al.*, 2008). However, *M. persicae* performed as well on *B. oleracea* than on *B. nigra* and *S. arvensis*.

Other plant characteristics like nitrogen concentration may also have had an impact on aphid development. *M. persicae* has been shown to respond to phloem nitrogen levels (van Emden & Bashford, 1969; Karley *et al.*, 2008), which are expected to be lower in cultivated than in wild species (Slansky & Feeny, 1977). Yet, in our study, the population growth rate of the aphid was not significantly different between one cultivar of *B. oleracea* and the two wild species *B. nigra* and *S. arvensis*. In conclusion, we cannot say which characteristics of the host plant species explained the differences in aphid development.

An alternative hypothesis to explain the differences observed in host plant suitability is a specialization of *M. persicae* on the Brassicaceae. The poor performance of the aphid on *S. lycopersicum* might have been the result of artificial selection of clones that have specialized on Brassicaceae in the field or in the laboratory, as aphids were reared on *B. oleracea* for at least 10 generations. In previous studies (Vorburger, 2006; Kasprowicz *et al.*, 2008), from aphids collected in the field, authors identified a small number of clones and at least one clone

that exhibited marked preference for *Brassica* crops. Thus, host plant adaptation in this aphid seems to occur, even under strong temporal and spatial variation in the availability of various vegetable and oilseed *Brassica* throughout the year. Moreover, this species is able to excrete (Weber *et al.*, 1986; Merritt, 1996) or detoxify glucosinolates (Francis *et al.*, 2005; Ramsey *et al.*, 2010). All these studies support the fact that some clones of *M. persicae* might be able to specialize on Brassicaceae. Host plant specialization could explain why, in our study, aphid performance was high on wild species characterized by high concentrations of GLS, and low on non-Brassicaceae species such as *So. lycopersicum*. However, it does not explain why *M. persicae* performed poorly on *B. napus*, and why it did not perform better on *B. oleracea* as the aphid could have adapted to this host plant.

Performance of the parasitoid *D. rapae* was indirectly affected by the plant on which *M. persicae* was feeding but, unexpectedly, was not correlated with the performance of its host. Gols & Harvey (2009) observed that for herbivores and parasitoids reared on different Brassicaceae, performance of the host and its parasitoid were positively correlated in most cases. We also observed a positive relationship between the performance of *Brevicoryne brassicae*, a Brassicaceae specialist that sequesters GLS, and *D. rapae* (Le Guigo *et al.*, 2011). In this study, *M. persicae* adults were bigger and male parasitoids were larger on *S. arvensis* (Fig. 1c and Fig. 2d), while aphids were smaller and female parasitoids were larger on *B. napus*. In contrast with the assumption that larger host size translates into higher quality resource for the parasitoid, and that host quality is determined by host size (Harvey, 2005), smaller hosts gave rise to larger female parasitoids. The parasitoid might have responded to differences in herbivore quality defined by other factors besides size (Harvey, 2005), or indirectly host plant species may have influenced the parasitoid's development. Moreover, whereas parasitism rate tended to be higher on both *B. napus* and *B. oleracea*, differences in development time and parasitoid size between these two species indicate that host plants might have contrasting effects on different life history traits. Further work is needed to explain the unexpected relationship between the performance of the aphid and its parasitoid, and to understand which characteristics of the host plants have an impact on the performance of the parasitoid.

Plant characteristics may have negative effects on survival and growth of some herbivore species, causing bottom-up regulation of population dynamics. Survival and reproduction of the parasitoids can also be influenced by plant characteristics through their host. Thus, plant species might also affect herbivore populations by mediating top-down regulation. Our study indicates that unexpectedly, cultivated species such as *B. napus* could reduce herbivore

performance and favour parasitoids. On the other hand, wild species such as *S. arvensis* could serve as reservoirs of both herbivores and parasitoids. More work on tritrophic interactions is needed to gain insights into the relative impact of cultivated and related wild Brassicaceae on the populations of herbivores and natural enemies. Whether herbivores and/or parasitoids specialize on one host plant, on a group of species or even on a landscape compartment should be investigated to determine the potential transfer of insect pests and natural enemies between cultivated and non-cultivated areas. Results may offer new perspectives for the design of systems that manage crop colonization by both herbivores and their natural enemies.

2.6. Acknowledgements

We would like to thank Michèle Travers, Ferréol Braud, and Isabelle Besse for technical assistance, Yannick Outreman for statistical advice, and Frédéric Francis for comments on a previous draft. The project benefited from suggestions by Yannick Outreman, Anne-Marie Cortesero, Emmanuel Corcket and Claire Campion. We acknowledge the French Ministry of Agriculture for funding. PLG was supported by a graduate fellowship from the region Pays-de-la-Loire (contract # 2007-7623).

2.7. References

- Agreste (2010) La statistique, l'évaluation et la prospective agricole, Ministère de l'agriculture, de l'alimentation, de la pêche, de la ruralité et de l'aménagement du territoire. <http://www.agreste.agriculture.gouv.fr>
- Barbosa P., Saunders J.A., Kemper J., Trumbule R., Olechno J., Martinat P. (1986) Plant allelochemicals and insect parasitoids - Effects of nicotine on *Cotesia congregata* (Say) (Hymenoptera: Braconidae) and *Hyposoter annulipes* (Cresson) (Hymenoptera: Ichneumonidae). *Journal of Chemical Ecology*, **12**, 1319-1328.
- Benrey B., Callejas A., Rios L., Oyama K., Denno R. (1998) The effects of domestication of *Brassica* and *Phaseolus* on the interaction between phytophagous insects and parasitoids. *Biological Control*, **11**, 130-140.
- Bianchi F.J.J.A., Booij C.J.H., Tscharntke T. (2006) Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings of the Royal Society B London*, **273**, 1715–1727.
- Birch L. C. (1948) The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology*, **17**, 15-26.
- Blande J. D., Pickett J. A., Poppy G. M. (2004) Attack rate and success of the parasitoid *Diaeretiella rapae* on specialist and generalist feeding aphids. *Journal of Chemical Ecology*, **30**, 1781-1795.
- Bukovinszky T., van Veen F. J. F., Jongema Y., Dicke M. (2008) Direct and indirect effects of resource quality on food web structure. *Science*, **319**, 804-807.
- Campan E., Benrey B. (2004) Behavior and performance of a specialist and a generalist parasitoid of bruchids on wild and cultivated beans. *Biological Control*, **30**, 220-228.
- Chen Y. H., Walter S.C. (2007) Crop domestication creates a refuge from parasitism for a native moth. *Journal of Applied Ecology*, **44**, 238-245.
- Clancy K.M., Price P.W. (1987) Rapid herbivore growth enhances enemy attack: sub-lethal plant defences remains a paradox. *Ecology*, **68**, 733-737.
- Cole R. A. (1997) The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **85**, 121-133.
- de Vos M., Kim J.H., Jander G. (2007) Biochemistry and molecular biology of *Arabidopsis*-aphid interactions. *BioEssays*, **29**, 871-883.

- Evans L.T. (1993) Crop evolution adaptation and yield. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Feeny P. (1977) Defensive ecology of the Cruciferae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **64**, 221-234.
- Francis F., Vanhaelen N., Haubruge E. (2005) Glutathione S-transferases in the adaptation to plant secondary metabolites in the *Myzus persicae* aphid. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, **58**, 166-174.
- Giordanengo P. (2009) DEMP 1.3, programme php pour calculer les paramètres démographiques (tables de survie). *Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France*, <http://www.u-picardie.fr/PCP/UTIL/demp.php>.
- Gols R., Bukovinszky T., van Dam N. M., Dicke M., Bullock J. M., Harvey J. A. (2008) Performance of generalist and specialist herbivores and their endoparasitoids differs on cultivated and wild *Brassica* populations. *Journal of Chemical Ecology*, **34**, 132-143.
- Gols R., Harvey J. A. (2009) Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochemistry Reviews*, **8**, 187-206.
- Green P.W.C., Stevenson P.C., Simmonds M.S.J., Sharma H.C. (2002) Can larvae of the pod-borer, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae), select between wild and cultivated pigeonpea *Cajanus* sp. (Fabaceae)? *Bulletin of Entomological Research*, **92**, 45-51.
- Harvey J. A. (2005) Factors affecting the evolution of development strategies in parasitoid wasps: the importance of functional constraints and incorporating complexity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **117**, 1-13.
- Harvey J. A., van Dam N. M., Gols R. (2003) Interactions over four trophic levels: Foodplant quality affects development of a hyperparasitoid as mediated through a herbivore and its primary parasitoid. *Journal of Animal Ecology*, **72**, 520-531.
- Harvey J.A., Wagenaar R. (2006) Development of the herbivore *Pieris rapae* and its endoparasitoid *Cotesia rubecula* on crucifers of field edges. *Journal of Applied Entomology*, **130**, 465-470.
- Hodge S., Pope T.W., Holaschke M., Powell G. (2006) The effect of β -aminobutyric acid on the growth of herbivorous insects feeding on Brassicaceae. *Annals of Applied Biology*, **148**, 223-229.
- Hopkins R. J., van Dam N. M., van Loon J. J. A. (2009) Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annual Review of Entomology*, **54**, 57-83.

- Kahuthia-Gathu R., Lohr B., Poehling H.M. (2008) Effect of common wild crucifer species of Kenya on fitness of two exotic diamondback moth parasitoids, *Cotesia plutellae* and *Diadegma semiclausum*. *Crop Protection*, **27**, 1477-1484.
- Karley A.J., Hawaes C., Ianetta P.P.M., Squire G.R. (2008) Intraspecific variation in *Capsella bursa-pastoris* in plant quality traits for insect herbivores. *Weed Research*, **48**, 147-156.
- Kasprowicz L., Malloch G., Pickup J., Fenton B. (2008) Spatial and temporal dynamics of *Myzus persicae* clones in fields and suction traps. *Agricultural and Forest Entomology*, **10**, 91-100.
- Kim J.H., Lee B.W., Schroeder F.C., Jander G. (2008) Identification of indole glucosinolate breakdown products with antifeedant effects on *Myzus persicae* (green peach aphid). *The Plant Journal*, **54**, 1015-1026.
- Kruess A., Tschardt T. (1994) Habitat fragmentation, species loss and biological control. *Science*, **264**, 1581-1484.
- Kuśnierczyk A., Winge P., Midelfart H., Armbruster W.S., Rossiter J.T., Bones A.M. (2007) Transcriptional responses of *Arabidopsis thaliana* ecotypes with different glucosinolate profiles alter attack by polyphagous *Myzus persicae* and oligophagous *Brevicoryne brassicae*. *Journal of Experimental Botany*, **58**, 2537-2552.
- Le Guigo P., Qu, Y., Le Corff J. (2011) Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid. *Basic and Applied Ecology*, **12**, 72-79.
- Massei G., Hartley S.E. (2000) Disarmed by domestication? Induced responses to browsing in wild and cultivated olive. *Oecologia*, **122**, 225-231.
- Merritt S.Z. (1996) Within-plant variation in concentrations of amino acids, sugar, and sinigrin in phloem sap of black mustard, *Brassica nigra* (L) Koch (Cruciferae). *Journal of Chemical Ecology*, **22**, 1133-1145.
- Mewis I., Appel H. M., Hom A., Raina R., Schultz J. C. (2005) Major signaling pathways modulate *Arabidopsis* glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing insects. *Plant Physiology*, **138**, 1149-1162.
- Mondolot L., Marlas A., Barbeau D., Gargadennec A., Pujol B., McKey D. (2008) Domestication and defence: Foliar tannins and C/N ratios in cassava and a close wild relative. *Acta Oecologica-International Journal of Ecology*, **34**, 147-154.
- Newton E., Bullock J. M., Hodgson D. (2009) Bottom-up effects of glucosinolate variation on aphid colony dynamics in wild cabbage populations. *Ecological Entomology*, **34**, 614-623.

- Osier T.L., Traugott M. S., Stamp N.E. (1996) Allelochemicals in tomato leaves affect a specialist insect herbivore *Manduca sexta* negatively but with no ill effects on a generalist insect predator, *Podisus maculiventris*. *Oikos*, **77**, 481-488
- Pike K. S., Starý P., Miller T., Allison D., Graf G., Boydston L., Miller R., Gillespie R. (1999) Host range and habitats of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae) in Washington state. *Environmental Entomology*, **28**, 61-71.
- Poelman E. H., van Dam N. M., van Loon J. J. A., Vet L.E.M., Dicke M. (2009) Chemical diversity in *Brassica oleracea* affects biodiversity of insect herbivores. *Ecology*, **90**, 1863-1877.
- Ramsey J.S., Rider D.S., Walsh T.K., de Vos M., Gordon K.H.J., Ponnala L., Macmil S.L., Roe B.A., Jander G. (2010) Comparative analysis of detoxification enzymes in *Acyrtosiphon pisum* and *Myzus persicae*. *Insect Molecular Biology*, **19**, 155-164.
- Schädler M., Brandl R., Kempel A. (2010) Host plant genotype determines bottom-up effects in an aphid-parasitoid-predator system. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **135**, 162-169.
- Sétamou M., Jiang N.Q., Schulthess F. (2005) Effect of the host plant on the survivorship of parasitized *Chilo partellus* Swinhoe (Lepidoptera: Crambidae) larvae and performance of its larval parasitoid *Cotesia flavipes* Cameron (Hymenoptera: Braconidae). *Biological Control*, **32**, 183-190.
- Slansky F. Jr., Feeny P. (1977) Stabilization of the rate of nitrogen accumulation by larvae of the cabbage butterfly on wild and cultivated food plants. *Ecological Monographs*, **47**, 209-228.
- Sotelo A., Sousa H., Sanchez M. (1995) Comparative study of the chemical composition of wild and cultivated beans (*Phaseolus vulgaris*). *Plant Foods for Human Nutrition*, **47**, 93-100.
- Sznajder B., Harvey J.A. (2003) Second and third trophic level effects of differences in plant species reflect dietary specialisation of herbivores and their endoparasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **109**, 73-82.
- Tscharntke T., Brandl R. (2004) Plant-insect interactions in fragmented landscapes. *Annual Review of Entomology*, **49**, 405-430.
- van Emden H.F., Bashford M.A. (1969) A comparison of the reproduction of *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* in relation to soluble nitrogen concentration and leaf age (leaf position) in the Brussel sprout plant. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, **12**, 351-364.

- Vialatte A., Dedryver C.-A., Simon J.-C., Galman M., Plantegenest, M. (2005). Limited gene exchanges between populations of an insect pest living on uncultivated and related cultivated host plants. *Proceedings of the Royal Society B London*, **272**, 1075-1082.
- Vorburger C. (2006) Temporal dynamics of genotypic diversity reveal strong clonal selection in the aphid *Myzus persicae*. *Journal of Evolutionary Biology*, **19**, 97-107.
- Wang X.-G., Nadel H., Johnson M. W., Daane K. M., Hoelmer K., Walton V. M., Pickett C. H., Sime K.R. (2009) Crop domestication relaxes bottom-up and top-down effects on a specialist herbivore. *Basic and Applied Ecology*, **10**, 216-227.
- Weber G., Oswald S., Zöllner U. (1986) Suitability of rape cultivars with a different glucosinolate content for *Brevicoryne brassicae* (L.) and *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera, Aphididae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, **93**, 113-124.

Fig 1. Development of *Myzus persicae* on *Solanum lycopersicum* (N = 29 plants), *Brassica napus* (N = 29), *B. oleracea* (N = 29), *B. nigra* (N = 30), and *Sinapis arvensis* (N = 29). Aphids performed poorly on *So. lycopersicum* and all differences between *So. lycopersicum* and the Brassicaceae host plant species were significant ($P < 0.001$). On the Brassicaceae species, significant differences in the development of *M. persicae* were observed for: a) the pre-reproductive period (in days), b) the adult longevity (in days), c) the adult biomass (in μg), and d) the intrinsic rate of increase (r_m). Different letters indicate significant differences between host plant species.

Figure 1.

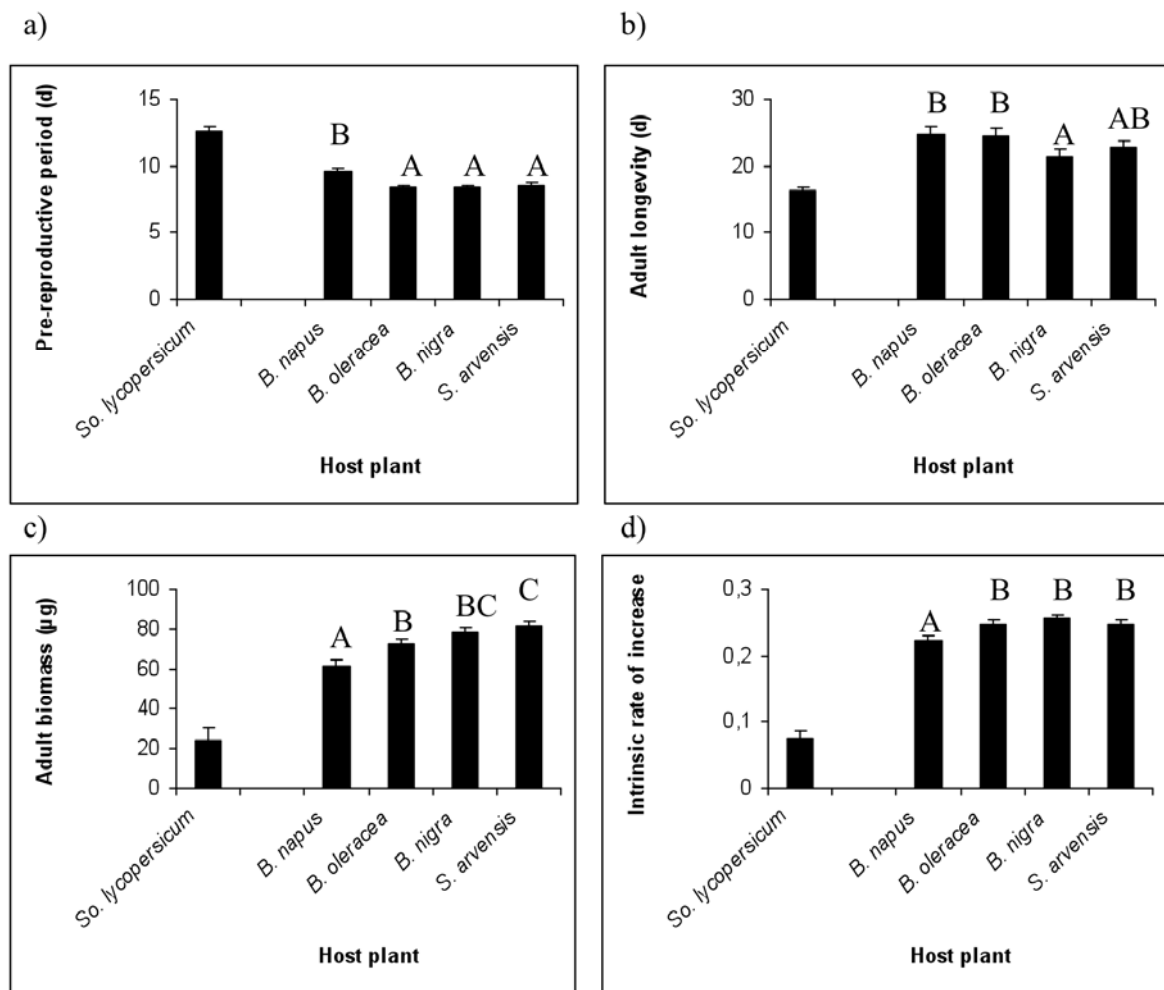
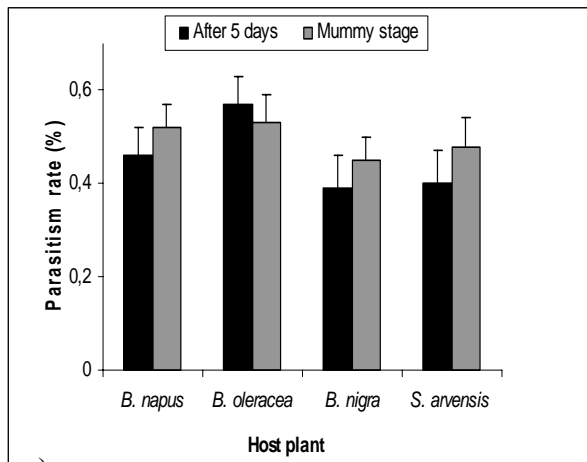


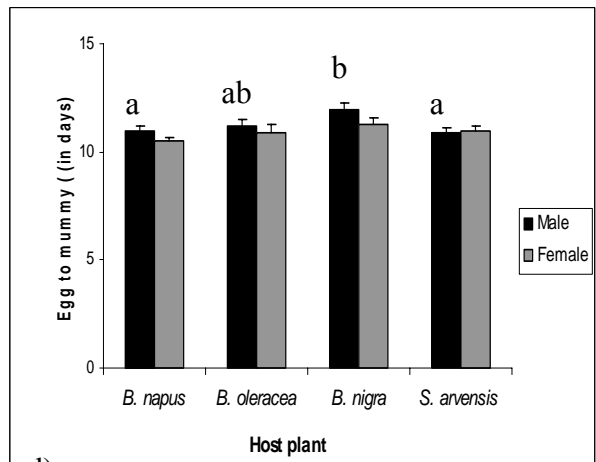
Fig 2. Parasitism rate and development of *Diaeretiella rapae* when its host *Myzus persicae* was feeding on *Brassica napus* (N = 27 plants), *B. oleracea* (N = 25), *B. nigra* (N = 28) or *Sinapis arvensis* (N = 28): a) Parasitism rate (%) estimated after 5 days and at mummy stage, b) Development time from egg to mummy (in days), c) Development time from mummy to adult (in days), d) Hind tibia length (μm) measured as a proxy of body size. Significant differences between host plant species are indicated by capital letters for the female parasitoids and lowercase letters for the males.

Figure 2.

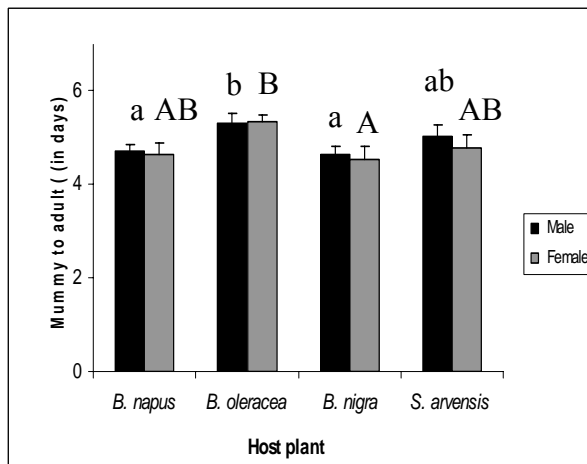
a)



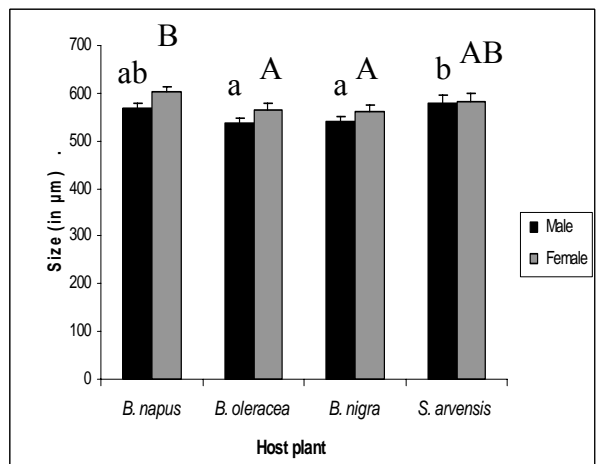
b)



c)



d)



Chapitre 1: Performances du phytophage spécialiste *Brevicoryne brassicae* et du phytophage généraliste *Myzus persicae*, et de leur parasitoïde commun *Diaeretiella rapae* sur différentes plantes hôtes

Article 2 : Impact de différentes espèces de plantes sur le développement d'un puceron spécialiste séquestrant les défenses des plantes et de son endoparasitoïde
Article paru dans *Basic and Applied Ecology*

Auteurs : Pauline Le Guigo, Ying Qu, Josiane Le Corff

Objectifs : Déterminer les performances d'un puceron spécialiste sur différentes espèces de plantes et l'impact de la séquestration par ce puceron sur les performances d'un parasitoïde.

Résumé et intérêt de l'étude : Les caractéristiques morphologiques, physiques, nutritives, chimiques des plantes peuvent influencer les performances des phytophages, et de plus en plus d'études indiquent que les plantes peuvent également influencer les performances des ennemis naturels de ces phytophages.

Les espèces de plantes de la famille des Brassicacées produisent des composés chimiques secondaires qui sont potentiellement toxiques pour les phytophages généralistes. Toutefois ces composés ne semblent pas affecter les performances des phytophages spécialistes qui utilisent également ces composés pour se défendre contre leurs propres ennemis naturels. En effet, la séquestration des défenses par les phytophages spécialistes est connue pour être toxique pour les prédateurs tels que les coccinelles. Cependant, à ce jour, il n'y a pas de données sur l'impact de la séquestration des glucosinolates (composés secondaires de défenses) par les phytophages sur les performances des parasitoïdes, qui à la différence des prédateurs effectuent leur développement dans un hôte unique.

Lors de cette étude, les performances du puceron *Brevicoryne brassicae* séquestrant les défenses des plantes et de son principal parasitoïde *Diaeretiella rapae* sont supposées être affectées par les caractéristiques de la plante sur laquelle ils se développent. Pour cela quatre espèces de plantes hôtes différentes, deux espèces cultivées *Brassica oleracea* et *B. napus*, et deux espèces sauvages, *B. nigra* et *Sinapis arvensis* ont été sélectionnées. Outre des différences dans leurs phénologies et leurs qualités nutritives, ces espèces diffèrent par leurs concentrations et leurs compositions en glucosinolates et leurs caractéristiques morphologiques.

La croissance des populations de *B. brassicae* n'est pas affectée par l'espèce de plante hôte. Toutefois, les pucerons adultes sont plus petits et vivent plus longtemps quand ils se développent sur le cultivar *B. oleracea*. La longévité accrue n'est pas en relation avec une fécondité plus importante et peut être un trait néfaste si cela augmente le risque de parasitisme. Les parasitoïdes ont un taux de parasitisme plus faible sur *B. oleracea*. Toutefois, les parasitoïdes sont étonnamment plus grands sur les pucerons se développant sur les plantes sauvages tels que *S. arvensis* et *B. nigra* qui contiennent plus de défenses chimiques.

Ainsi les variations des caractéristiques des plantes peuvent avoir un impact sur la fitness du parasitoïde à travers son puceron hôte. Contrairement aux études précédentes qui ont montré que la séquestration des défenses des plantes par les phytophages est un bon mécanisme de défenses contre les prédateurs, *B. brassicae* ne semble pas bénéficier de la séquestration des glucosinolates pour limiter l'attaque de son principal parasitoïde.

3. Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid

3.1. Abstract

Variation in plant morphology and chemistry can directly influence the performance of insect herbivores. A growing number of studies indicate that plants can also influence the performance of the natural enemies of the herbivores. Plant species in the Brassicaceae produce secondary compounds known as glucosinolates (GLS) whose hydrolysis products are potentially toxic to many herbivores. Some specialist insects are known to sequester the GLS, but up to date, there is no data on impact of GLS sequestration by insect herbivores on the performance of their parasitoids. We asked whether the performance of the GLS-sequestering aphid *Brevicoryne brassicae* and its parasitoid *Diaeretiella rapae* were affected by the host plants on which they feed. We selected four host plant species, one cultivar of *Brassica oleracea* and *B. napus*, and two wild species, *B. nigra* and *Sinapis arvensis*. Among other traits, these species differ in GLS content and composition as well as in some morphological characteristics. Population growth rate of *Br. brassicae* was not affected by host plant species. However, adult aphids were the smallest, but also lived the longest when they had developed on the *B. oleracea* cultivar. Parasitoids were larger when their aphid hosts fed on the wild species. Unexpectedly, parasitism rate was lower on *B. oleracea*. Thus, variation in host plant characteristics had an impact on the fitness of the parasitoid through its aphid host. In contrast to previous studies, which have shown that sequestration is a good defence mechanism against predators, we did not observe that *Br. brassicae* benefits from the sequestration of GLS to limit attacks by its main parasitoid.

Keywords: tritrophic interactions, Brassicaceae, sequestration, glucosinolates, aphid, parasitoid, *Brevicoryne*, *Diaeretiella*, *Brassica*, *Sinapis*.

3.2. Introduction

An important challenge in ecology is to understand how trophic interactions between species can be indirectly influenced by other species, and how indirect interactions affect the dynamics and structure of communities (Ohgushi 2005). In the context of multitrophic interactions between plants, herbivores and their natural enemies, intra- and interspecific differences in plant characteristics such as physical and chemical defences can profoundly influence the performance of insect herbivores (Awmack & Leather 2002). A growing number of studies suggest that plants can also indirectly influence the performance of the natural enemies of the herbivores, such as parasitoids and predators (Price, Bouton, Gross, McPherson, Thompson et al. 1980; Barbosa, Gross, & Kemper 1991; Ode 2006). However, variation in host plant characteristics may have contrasting effects on the second and third trophic levels. For example, more nutritional or less well-defended plants may increase the performance of both the herbivores and their natural enemies (Teder & Tammaru 2002). On the other hand, the most suitable plants for the herbivores might be the least suitable for the parasitoids as herbivores might have a greater capacity to defend themselves (Karowe & Schoonhoven 1992). Finally, the development of herbivores and their parasitoids might not be affected by differences in plant defences (Harvey, van Nouhuys, & Biere 2005). Thus, the relationship between host plant suitability for herbivores and their natural enemies merits further investigation to gain knowledge on plant-mediated effects on the interactions between the second and the third trophic level.

Plants in the Brassicaceae family represent a good model for studying tritrophic interactions due to their well-characterized chemistry. Damage of plant tissue enables contact of glucosinolates (hereafter GLS) with the enzyme myrosinase, and the subsequent hydrolysis results in the release of a number of compounds toxic to many insects. However, insect herbivores that mainly feed on Brassicaceae species have evolved adaptations to excrete, detoxify, or sequester GLS (see Hopkins, van Dam, & van Loon 2009 for review). Surprisingly, only a few papers have reported the effects of toxic Brassicaceae secondary compounds on specialist herbivores and their natural enemies. Gols and colleagues (Gols, Bukovinszky, van Dam, Dicke, Bullock et al. 2008; Gols, van Dam, Raaijmakers, Dicke, & Harvey 2009) observed that for herbivores and parasitoids reared on different Brassicaceae, performance of the host and its parasitoid were positively correlated in most cases, with the negative impact of GLS being usually less pronounced for the parasitoid. Yet, there is no data for specialist herbivores that sequester GLS and for their parasitoids.

Sequestration of GLS has been documented in the sawfly *Athalia rosae* (Müller, Agerbirk, Olsen, Boevé, Schaffner et al. 2001, Müller 2009), in the bug *Murgantia histrionica* (Aliabadi, Renwick, & Whitman 2002), and in some specialist aphids. For example, *Brevicoryne brassicae* L. and *Lipaphis erysimi* Kaltensbach sequester GLS from phloem sap. Both aphids avoid the production of toxic compounds thanks to a spatial separation of the GLS and the aphid myrosinase (Bridges, Jones, Bones, Hodgson, Cole et al. 2002; Kazana, Pope, Tibbles, Bridges, Pickett et al. 2007). Previous studies indicate that these specialist aphids are either negatively (Mewis, Appel, Hom, Raina, & Schultz 2005; Newton, Bullock, & Hodgson 2009) or not affected by the GLS encountered in their host plants (Weber, Oswald, & Zöllner 1986; Hopkins, Ekbom, & Henkow 1998). Furthermore, when larvae of the ladybird beetle *Adalia bipunctata* or the hoverfly *Episyrphus balteatus* prey on *Br. brassicae*, survival and fecundity are low when the aphid feeds on host plants or artificial diets rich in GLS (Francis, Lognay, Wathelet, & Haubruge 2001; Kazana et al. 2007; Pratt, Pope, Powell, & Tossiter 2008). To compensate for the potential cost of sequestration, it has been hypothesized that sequestration might represent a good defence mechanism against natural enemies (Francis et al. 2001, Bridges et al. 2002). However, this hypothesis has only been tested for a few predators (Francis et al. 2001; Vanhaelen, Gaspar, & Francis 2002; Pratt et al. 2008). Little is known about sequestering aphids and the performance of their endoparasitoids. Unlike predators that consume several preys, endoparasitoids are insects whose immature stages develop inside a single host. Thus, their development is dependent on the resources encountered in one individual, and it is not yet clear whether sequestration of GLS by its host has an impact on the parasitoid (Kazana et al. 2007).

In this study, we investigated the relationship between the suitability of host plant species for the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Linnaeus) (Aphididae: Aphidinae), and for its main parasitoid, *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Aphidiiidae). Using two cultivated (*B. napus* and *B. oleracea*), and two wild species (*B. nigra* and *Sinapis arvensis*), we addressed the following questions: *i*) Is the performance (measured as population growth rate) of *Br. brassicae* different among the four species?, *ii*) Is the performance (estimated as parasitism rate, survival, development time, longevity and offspring size) of *D. rapae* influenced by the host plant species on which *Br. brassicae* feeds?, and *iii*) Do both *Br. brassicae* and *D. rapae* perform better on the cultivated plant species? Cultivated and wild crucifers have been shown to differ in a number of traits associated with plant defences against herbivores (Slansky & Feeny 1977; Cole 1997; Benrey, Callejas, Rios, Oyama, & Denno 1998; Harvey, van Dam, & Gols 2003; Gols et al. 2008). As a consequence of artificial

selection, cultivated plants are considered to be more nutritious and less well-defended than their wild relatives, and thus more susceptible to attacks by insect herbivores. Therefore, we expected *B. napus* and *B. oleracea* to be more suitable for the development of *Br. brassicae* and *D. rapae*, compared to *B. nigra* and *S. arvensis*.

3.3. Materials and Methods

3.3.1. Plants

Seeds of *B. nigra* and *S. arvensis* were collected from feral populations around the city of Angers (47°28' N, 1°27' E - France) in 2007. Seeds of the two cultivars, *B. oleracea* variety *acephala* cv. Bonanza and *B. napus* cv. 'NK Bravour', were provided respectively by Baumaux Seeds in Nancy (France) and the Technical Centre for Oilseed crops (CETIOM) in Rennes (France). From April to July 2008 at the AGROCAMPUS OUEST (Angers) greenhouse facilities, all plants were grown from seeds in 14-cm-Ø pots containing a soil substrate of approximately 20% clay, 20% sand, 30% compost and 30% peat. Pots were randomized within a greenhouse compartment maintained at 22±8 °C and 40-80% r.h. Pots were watered daily. Plants had reached the 4-5 true leaf stage (30-35 days-old) at the beginning of the experiments.

At this stage, some morphological and chemical defence traits were measured on 5-10 plants for each species. Trichome numbers were counted on one 1-cm-Ø leaf disc from each of five leaves per plant. Average leaf toughness was estimated using a force gauge penetrometer (Type MTS Synergie 200H). Two measurements were taken on the third and fourth leaves with two measurements per leaf. Furthermore, on six plants, the third or fourth true leaf was cut off with a razor blade and immediately freeze-dried for GLS analyses. The GLS were extracted and converted into desulphoglucosinolates according to Van Dam, Witjes, & Svatoš (2003).

3.3.2. Insects

Br. brassicae, commonly known as the cabbage aphid, feeds exclusively on plant species in the Brassicaceae. It is an important pest of *Brassica* crops, attacked by a variety of natural enemies including ladybird larvae and its main parasitoid, *D. rapae*. *D. rapae* is a solitary endoparasitoid and has been recorded from more than 60 different aphid host species worldwide (Pike, Starý, Miller, Allison, Graf et al. 1999). However, it is most commonly

associated with aphids feeding on Brassicaceae such as *Br. brassicae*, *L. erysimi* and *Myzus persicae* (Sulzer).

In this study, the herbivore, *Br. brassicae*, and its endoparasitoid, *D. rapae*, were originally collected in 2005 from cabbage fields near Angers. Cultures of *Br. brassicae* have been maintained at the AGROCAMPUS OUEST laboratory facilities on potted *B. oleracea* variety *acephala* cv. Bonanza in a climate chamber at 22 ± 1 °C, $70\pm10\%$ r.h., and 16 h L: 8 h D photoperiod. Field collected aphids were added to the stock colonies every year to maintain genetic diversity. In March 2008, *Br. brassicae* colonies were collected around Angers on *B. nigra*, *S. arvensis*, and *B. napus*. Stock colonies were maintained for at least 10 generations on each host plant before the beginning of the experiments, under the same environmental conditions as the aphids feeding on *B. oleracea*. The parasitoid *D. rapae* had been reared for several generations on *B. oleracea* infested with *Br. brassicae* in a growth chamber with a 16 h L: 8 h D photoperiod, a temperature of 18 ± 1 °C and $70\pm20\%$ r.h. Adults were provided *ad libitum* with a 5% honey solution and a mixture of pollen, honey and yeast. Field collected parasitoids were added to the stock colonies every year to maintain genetic diversity.

3.3.3. Development of *Br. brassicae* on different host plant species

To determine whether the performance of *Br. brassicae* differed when the aphids were reared on different host plant species, measurements of aphid development were conducted as follows. Thirty plants per species were brought from the greenhouse to a climate chamber kept at 18 ± 1 °C, 70% r.h., and 16 h light. Plants were randomized within the chamber. Each plant was enclosed in a perforated cellulosic bag that allowed plant development and prevented insect escape. After a 2-day acclimation period, one L4 nymph of *Br. brassicae* reared on *B. oleracea* was placed with a fine paintbrush on the fourth true leaf of each plant and left untouched for 24 hours after it had produced its first larva. The adults were then removed and nymphs were allowed to develop into adults on the host plant species. The developmental stage of the nymphs was recorded daily to estimate nymph mortality and the pre-reproductive period, i.e. from birth until onset of reproduction. When all nymphs had developed into adults, their live biomass was estimated with a high precision microbalance (Precisa 92SM-202A, Servilab, Le Mans, France, 10^{-5} g). The last nymph to become an adult was kept on the host plant until its death. These aphids were used to determine longevity, total fecundity, and the intrinsic rate of increase r_m as an estimate of fitness. For each aphid “population”, the intrinsic rate of natural increase (r_m) was calculated from:

$$\sum l_x m_x e^{-r_m x} = 1$$

where x is the age (in days), l_x is the age-specific survival, and m_x is the age-specific fecundity (Birch 1948). The variance of r_m was estimated with the DEMP program (Giordanengo 2009).

3.3.4. Development of *D. rapae* on aphids feeding on different host plant species

In this experiment, the parasitoid had no direct contact with the host plant. The aphids originated from the populations maintained on each plant species, as we were interested in measuring the performance of *D. rapae* on aphids that might have adapted to their host plants. To determine whether the performance of the parasitoid *D. rapae* was indirectly affected by the aphid host plant, we compared parasitism success, including parasitism rate, larval survival to adulthood, development time, longevity and adult size on *Br. brassicae* maintained on *B. napus*, *B. oleracea*, *B. nigra*, or *S. arvensis*. Thirty to 40 plants per species were brought from the greenhouse to the same growth chamber as described earlier. To assess parasitism rate, mated, 1-day-old, fed and naïve female parasitoids were exposed to 12 L2 aphids, one at a time, in a 6-cm-Ø plastic Petri dish. Each aphid was removed after it had been stung once by the parasitoid, and it was placed back on its respective host plant. After five days, half of them (six or less if some aphids had died) were dissected. The number of aphids containing a parasitoid larva was recorded. The other half (if possible six aphids) was kept on the host plant until mummies were formed after approximately 10 days. The number of mummies and aphids were counted on each host plant. Performance of *D. rapae* was further assessed by determining the sex ratio, longevity and size of the resulting adults. Mummies were removed from the plants and kept in small vials until adult eclosion. The adult parasitoids were sexed and fed with a honey solution until their death. Mortality of the parasitoids was recorded daily. The size of males and females (as a proxy of fitness) was estimated by measuring hind tibia length using a 5-× magnification lens and the Metaview © program. The size of female parasitoids was also measured for adults emerging from *Br. brassicae* colonies collected on the same four host plant species around Angers (France). Colonies were sampled between May and October 2008. Only one randomly chosen female parasitoid was measured for each aphid colony.

3.3.5. Statistical analyses

To determine if host plant species differed in traits associated with physical and chemical defences, Mann-Whitney U and Kruskal-Wallis non-parametric tests were used to compare

trichome numbers, leaf toughness and GLS concentrations. To compare aphid and parasitoid performance among host plant species, Generalized Linear Models (GLM) were used to analyze non-nested data calculated for each aphid (number of nymphs, aphid longevity and total fecundity). Generalized Estimating Equations (GEE) were used to analyze all other variables, as data collected on all aphids feeding on one plant and on all offspring from one female parasitoid were considered nested. Over-dispersed data were corrected with a quasi-function distribution. All computations were done with R (R development Core Team 2005). Multiple comparisons were adjusted with the Bonferroni test under the function ‘*esticon*’ in the ‘*doby*’ package (Author: Søren Højsgaard).

3.4. Results

3.4.1. Plant characteristics

All four species are annual but differed in the levels of physical and chemical defences: the two wild species were characterized by the presence of trichomes on the leaves, and they contained higher concentrations of glucosinolates compared to the two cultivars (Table 1). However, leaf toughness was significantly higher for the two cultivated species (Table 1).

3.4.2. Development of *Br. brassicae* on different host plant species

Most larval and adult life-history traits of *Br. brassicae* did not differ significantly among *B. napus*, *B. oleracea*, *B. nigra*, and *S. arvensis*. Host plant species did not have an effect on total number of nymphs laid in 24 hrs, nymph mortality, length of the pre-reproductive period, and total adult fecundity (Table 2). However, unexpectedly, plant species had a significant effect on adult biomass and adult longevity (Table 2): adults of *Br. brassicae* were significantly heavier when reared on *B. nigra* and *B. napus* than on *B. oleracea* and lived significantly longer on *B. oleracea* than on *S. arvensis* and *B. nigra*. Thus, aphids were smaller but lived longer on the plant on which they had been reared. However, these differences did not translate into differences in population growth rates (i.e. intrinsic rates of natural increase) (Table 2).

3.4.3. Development of *D. rapae* on aphids feeding on different host plant species

Plant species significantly affected percent parasitism estimated after 5 days and at the mummy stage (Table 3). In both cases, percent parasitism was significantly lower on *B.*

oleracea, but did not differ among the other host plant species. Furthermore, development time from mummy to adult was also significantly longer when *Br. brassicae* was reared on *B. oleracea* than on the other host plant species (Table 3). The resulting adult parasitoids were significantly smaller when the aphids fed on *B. oleracea*. Male and female parasitoids were larger when the host plant was *S. arvensis* (Fig. 1). Female parasitoids were also larger on *B. nigra* and there was no significant difference in size of female parasitoids reared on the two wild species (Fig. 1). The same result was observed in the field collected female parasitoids (Fig. 1). On the other hand, survival from egg to adult was higher when *Br. brassicae* aphids were maintained on cultivated *B. napus* and *B. oleracea*. Finally, plant species did not have a statistically significant effect on development time from egg to mummy, adult longevity (either for males or females) and sex ratio (Table 3).

3.5. Discussion

Even though aphids were smaller and lived longer on *B. oleracea*, differences in plant defences did not translate into differences in population growth rates among host plant species. In contrast with our initial hypothesis, the cultivated species were not more suitable for *Br. brassicae* development than the wild species. These results contrast also with previous studies that have shown that *Br. brassicae* develops better on different *B. oleracea* cultivars compared to wild species such as: *B. nigra*, *B. fruticulosa*, and *B. spinescens* (Cole 1997), *B. incana*, *B. villosa*, *B. fruticulosa*, and *B. spinescens*, (Ellis, Kift, Pink, Jukes, Lynn et al. 2000), or *S. arvensis* (Ulusoy & Ölmez-Bayhan 2006). Mechanisms to explain these differences have been rarely discussed, with the exception of Cole (1997). Her results indicate a significant correlation between the intrinsic growth rate of *Br. brassicae* and glucosinolate and amino acid concentrations in 20 *Brassica* species or cultivars. In our study, variation in glucosinolate concentrations did not translate into differences in aphid performance. Differences among host plant species had an impact on parasitoid fitness. The size of *D. rapae* was significantly larger when its host had been feeding on *S. arvensis* or *B. nigra*. Larger *D. rapae* were also observed in the field on wild Brassicaceae. We found only one other study that compared parasitoid size on different host plant species. Bukovinszky, van Veen, Jongema, & Dicke (2008) indicate that female and male *D. rapae* were larger on feral *B. oleracea* compared to cultivated ones. In their study, host plant species differed in several traits such as secondary chemistry, leaf thickness, and architecture. Thus, GLS sequestration does not seem an effective defence for *Br. brassicae* against its main parasitoid. On the one

hand, it is difficult to explain why *D. rapae* develops better when its host feeds on well-defended plants. Larvae of endoparasitoids are likely to be exposed to GLS sequestered by their host at some point during their development. However, *D. rapae* might have adapted to its GLS-sequestering aphid hosts by selectively exploiting the aphid abdomen for oviposition and larval development. On the other hand, the parasitoid might have responded to differences in herbivore size or quality (Harvey 2005). *Br. brassicae* and *D. rapae* were both smaller on *B. oleracea*. Lower parasitism rate was also observed for aphids that were feeding on *B. oleracea*. Indirectly, host plant species may have influenced the parasitoid's "decision" to oviposit into the aphid or the probability of egg development (Ölmez-Bayhan, Ulusoy, & Bayhan 2007). In particular, the herbivore immune defence can be affected by the host plant species (Bukovinszky, Poelman, Gols, Prekatsakis, Vet et al. 2009, Smilanich, Dyer, Chambers, & Bowers 2009). At this stage, because dissection was conducted five days after exposure to the parasitoid, we cannot differentiate between these two hypotheses.

To summarize, as in other systems (reviewed by Gols & Harvey 2009), host-mediated differences in host plant quality were passed on to the third trophic level. The question remains why *B. oleracea* is the least suitable host plant for both the herbivore and the parasitoid. The large number of varieties and the few data available on the characteristics of each variety make it difficult to explain differences in the performance of the herbivores (Gols, Raaijmakers, van Dam, Dicke, Bukovinszky et al. 2007; Poelman, Galiart, Raaijmakers, van Loon, & van Dam 2008).

Whereas sequestration of GLS by *Br. Brassicae* is very effective against generalist predators, it does not seem to have a negative impact on the development of its main parasitoid. *D. rapae* might be able to detoxify GLS, or interfere with the sequestration process, or avoid tissue damage in its host that would bring GLS in contact with the aphid myrosinase. From the herbivore point of view, these results suggest that different guilds of natural enemies may exert different selective pressures. However, more work is needed to unravel the mechanisms that give parasitoids the capacity to cope with the potentially toxic plant secondary compounds encountered in their hosts.

3.6. Acknowledgements

We would like to thank J. A. Harvey and two anonymous reviewers for constructive comments that greatly improved the manuscript. We also thank Michèle Travers and Isabelle Besse for technical assistance, Gaëlle Guéritaine for the GLS extractions, Ronan Symoneaux (GRAPPE – ESA Angers) for the leaf toughness measurements, Yannick Outreman for statistical advice, Armin Bischoff and Martijn van Walwijk for linguistic revision. The project benefited from suggestions by Yannick Outreman, Anne-Marie Cortesero, Emmanuel Corcket and Claire Campion. We acknowledge the French Ministry of Agriculture for funding. PLG was supported by a graduate fellowship from the region Pays-de-la-Loire (contract # 2007-7623).

3.7. References

- Aliabadi, A., Renwick, J. A. A., & Whitman, D. W. (2002). Sequestration of glucosinolates by Harlequin bug *Murgantia histrionica*. *Journal of Chemical Ecology*, 28, 1749-1762.
- Awmack, C. S., & Leather, S. R. (2002). Host plant quality and fecundity in herbivorous insects. *Annual Review of Entomology*, 47, 817-844.
- Barbosa, P., Gross, P., & Kemper, J. (1991). Influence of plant allelochemicals on the tobacco hornworm and its parasitoid, *Cotesia congregata*. *Ecology*, 72, 1567-1575.
- Benrey, B., Callejas, A., Rios, L., Oyama, K., & Denno, R. (1998). The effects of domestication of *Brassica* and *Phaseolus* on the interaction between phytophagous insects and parasitoids. *Biological Control*, 11, 130-140.
- Birch, L. C. (1948). The intrinsic rate of natural increase of an insect population. *Journal of Animal Ecology*, 17, 15-26.
- Bridges, M., Jones, A. M. E., Bones, A. M., Hodgson, C., Cole, R., Bartlet, E., Wallsgrove, R., Karapapa, V. K., Watts, N., & Rossiter, J. T. (2002). Spatial organization of the glucosinolate-myrosinase system in brassica specialist aphids is similar to that of the host plant. *Proceedings of the Royal Society London Series B*, 269, 187-191.
- Bukovinszky, T., van Veen, F. J. F., Jongema, Y., & Dicke M. (2008). Direct and indirect effects of resource quality on food web structure. *Science*, 319, 804-807.
- Bukovinszky, T., Poelman, E. H., Gols, R., Prekatsakis, G., Vet, L. E. M., Harvey, & J.A., Dicke, M. (2009) Consequences of constitutive and induced variation in plant nutritional quality for immune defence of a herbivore against parasitism. *Oecologia*, 160, 299-308
- Cole, R. A. (1997). The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated brassica species. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 85, 121-133.
- Ellis, P. R., Kift, N. B., Pink, D.A. C., Jukes, P. L., Lynn J., & Tatchell G. M. (2000). Variation in resistance to the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*) between and within wild and cultivated *Brassica* species. *Genetic Research and Crop Evolution*, 47, 395-401.

- Francis, F., Lognay, G., Wathelet, J.-P., & Haubruge, E. (2001). Effects of allelochemicals from first (Brassicaceae) and second (*Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*) trophic levels on *Adalia bipunctata*. *Journal of Chemical Ecology*, 27, 243-256.
- Giordanengo, P. (2009). DEMP 1.3, programme php pour calculer les paramètres démographiques (tables de survie). Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France, <http://www.u-picardie.fr/PCP/UTIL/demp.php>.
- Gols, R., Raaijmakers, C.E., van Dam, N. M., Dicke, M., Bukovinszky, T., & Harvey, J. A. (2007). Temporal changes affect plant chemistry and tritrophic interactions. *Basic and Applied Ecology*, 8, 421-433.
- Gols, R., Bukovinszky, T., van Dam, N. M., Dicke, M., Bullock, J. M., & Harvey J. A. (2008). Performance of generalist and specialist herbivores and their endoparasitoids differs on cultivated and wild *Brassica* populations. *Journal of Chemical Ecology*, 34, 132-143.
- Gols, R., & Harvey, J. A. (2009). Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochemistry Reviews*, 8, 187-206.
- Gols, R., van Dam, N. M., Raaijmakers, C. E., Dicke, M., & Harvey, J. A. (2009). Are population differences in plant quality reflected in the preference and performance of two endoparasitoid wasps? *Oikos*, 118, 733-743
- Harvey, J. A. (2005). Factors affecting the evolution of development strategies in parasitoid wasps: the importance of functional constraints and incorporating complexity. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 117, 1-13.
- Harvey, J. A., van Dam, N. M., & Gols, R. (2003). Interactions over four trophic levels: Foodplant quality affects development of a hyperparasitoid as mediated through a herbivore and its primary parasitoid. *Journal of Animal Ecology*, 72, 520-531.
- Harvey, J. A., van Nouhuys, S., & Biere, A. (2005). Effects of quantitative variation in allelochemicals in *Plantago lanceolata* on development of a generalist and a specialist herbivore and their endoparasitoids. *Journal of Chemical Ecology*, 31, 287-302.
- Hopkins, R. J., Ekbom, B., & Henkow, L. (1998). Glucosinolate content and susceptibility for insect attack of three populations of *Sinapis alba*. *Journal of Chemical Ecology*, 24, 1203-1216.
- Hopkins, R. J., van Dam, N. M., & van Loon, J. J. A. (2009). Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annual Review of Entomology*, 54, 57-83.

- Karowe, D. N., & Schoonhoven, L. M. (1992). Interactions among three trophic levels: the influence of host plant on performance of *Pieris brassicae* and its parasitoid, *Cotesia glomerata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 62, 241-251.
- Kazana, E., Pope, T. W., Tibbles, L., Bridges, M., Pickett, J. A., Bones, A. M., Powell, G., & Rossiter, J. T. (2007). The cabbage aphid: a walking mustard oil bomb. *Proceedings of the Royal Society London Series B*, 274, 2271-2277.
- Mewis, I., Appel, H. M., Hom, A., Raina, R., & Schultz, J. C. (2005). Major signaling pathways modulate *Arabidopsis* glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing insects. *Plant Physiology*, 138, 1149-1162.
- Müller, C. (2009). Interactions between glucosinolate- and myrosinase-containing plants and the sawfly *Athalia rosae*. *Phytochemistry Reviews*, 8, 121-134.
- Müller, C., Agerbirk, N., Olsen, C. E., Boevé, J.-L., Schaffner, U., & Brakefield, P. M. (2001). Sequestration of host plant glucosinolates in the defensive hemolymph of the sawfly *Athalia rosae*. *Journal of Chemical Ecology*, 27, 2505-2515.
- Newton, E. L., Bullock, J. M., & Hodgson, D. G. (2009) Glucosinolate polymorphism in wild cabbage (*Brassica oleracea*) influences the structure of herbivore communities. *Oecologia*, 160, 63-76
- Ode, P. J. (2006). Plant chemistry and natural enemy fitness: Effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annual Review of Entomology*, 51, 163-185.
- Ohgushi, T. (2005). Indirect interaction webs: herbivore-induced effects through trait change in plants. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 36, 81-105
- Ölmez-Bayhan, S., Ulusoy, M. R., & Bayhan E. (2007). Is the parasitization rate of *Diaeretiella rapae* influenced when *Brevicoryne brassicae* feeds on *Brassica* plants? *Phytoparasitica*, 35, 146-149.
- Pike, K. S., Starý, P., Miller, T., Allison, D., Graf, G., Boydston, L., Miller, R. & Gillespie, R. (1999). Host range and habitats of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae) in Washington state. *Environmental Entomology*, 28, 61-71.
- Poelman, E. H., Galiart, R. J. F. H., Raaijmakers C. E., van Loon, J. J. A., & van Dam N. M. (2008). Performance of specialist and generalist herbivores feeding on cabbage cultivars is not explained by the glucosinolate profiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 127, 218-228.

- Pratt, C., Pope, T. W., Powell, G., & Tossiter J. T. (2008). Accumulation of glucosinolates by the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* as a defense against two coccinellid species. *Journal of Chemical Ecology*, 34, 323-329.
- Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., McPherson, B. A., Thompson, J. N., & Weis, A. E. (1980). Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 11, 41-65.
- Slansky, F. Jr., & Feeny, P. (1977). Stabilization of the rate of nitrogen accumulation by larvae of the cabbage butterfly on wild and cultivated food plants. *Ecological Monographs*, 47, 209-228.
- Smilanich, A. M., Dyer, L. A., Chambers, J. Q., & Bowers, M. D. (2009). Immunological cost of chemical defence and the evolution of herbivore diet breadth. *Ecology Letters*, 12, 612-621.
- Teder, T., & Tammaru T. (2002). Cascading effects of variation in plant vigour on the relative performance of insect herbivores and their parasitoids. *Ecological Entomology*, 27, 94-104.
- Ulusoy, M. R., & Ölmez-Bayhan, S. (2006). Effect of certain *Brassica* plants on the biology of the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* under laboratory conditions. *Phytoparasitica*, 34, 133-138.
- Van Dam, N. M., Witjes, L., & Svatoš A. (2003). Interactions between aboveground and belowground induction of glucosinolates in two wild *Brassica* species. *New Phytologist*, 161, 801-810.
- Vanhaelen, N., Gaspar, C., & Francis F. (2002). Influence of prey host plant on a generalist aphidophagous predator: *Episyrphus balteatus* (Diptera: Syrphidae). *European Journal of Entomology*, 99, 561-564.
- Weber, G., Oswald, S., & Zöllner, U. (1986). Suitability of rape cultivars with a different glucosinolate content for *Brevicoryne brassicae* (L.) and *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera, Aphididae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 93, 113-124.

Table 1. Trichome number (N cm^{-1}), leaf toughness (Newton) and GLS concentration ($\mu\text{moles g}^{-1}$ dry mass) in leaves of *Brassica napus*, *B. oleracea*, *B. nigra* and *Sinapis arvensis*. Mean values are given with $\pm\text{SE}$ and (N).

Traits (Model and significance)	Host plant species			
	<i>B. napus</i>	<i>B. oleracea</i>	<i>B. nigra</i>	<i>S. arvensis</i>
Trichome number ($U = 2.17, P < 0.05$)	0 \pm 0(10)	0 \pm 0(5)	26.1 \pm 2.40(9)	19.3 \pm 1.4(10)
Leaf toughness ($\chi^2 = 19.53, P < 0.001$)	1.37 \pm 0.11(6)	1.60 \pm 0.03(6)	0.51 \pm 0.03(6)	0.64 \pm 0.04(6)
GLS concentration ($\chi^2 = 18.11, P < 0.001$)	5.32 \pm 1.81(6)	4.51 \pm 0.38(6)	51.02 \pm 7.23(6)	18.22 \pm 4.97(6)

Table 2. Development of *Brevicoryne brassicae* on four host plant species. Larval and adult life history traits (means±S.E.) were estimated on 30 plants/species except for data on adult biomass: $N = 12$ host plants for *Brassica napus*, $N = 24$ for *B. oleracea*, $N = 29$ for *B. nigra* and $N = 14$ for *Sinapis arvensis*. All data were nested per host plant, except for the data on number of nymphs, longevity and total fecundity.

Traits at each stage (Model and significance)	Host plant species			
	<i>B. napus</i>	<i>B. oleracea</i>	<i>B. nigra</i>	<i>S. arvensis</i>
Larva				
Number of nymphs (P, $\chi^2 = 7.55$, $P = 0.20$)	8.03±0.60	8.90±0.62	10.03±0.87	9.63±0.72
Nymph mortality (B, $\chi^2 = 0.93$, $P = 0.82$)	1.17±0.28	1.13±0.29	1.30±0.36	1.60±0.35
Pre-reproductive period (d) (G, $F = 5.55$, $P = 0.14$)	10.85±0.22	10.93±0.13	10.60±0.12	10.61±0.15
Adult				
Adult biomass (10^{-5} g) (N, $F = 14.07$, $P < 0.01$)	73.42±5.46 ^a	60.54±2.50 ^b	75.72±3.79 ^a	65.68±3.97 ^{ab}
Longevity (d) (G, $F = 4.28$, $P < 0.01$)	14.62±1.23 ^{ab}	17.79±1.26 ^a	14.07±1.24 ^b	11.62±1.02 ^b
Total fecundity (P, $\chi^2 = 38.12$, $P = 0.16$)	48.17±3.79	52.83±3.60	43.63±2.55	43.17±3.75
r_m (N, $F = 0.12$, $P = 0.95$)	0.220±0.006	0.216±0.005	0.217±0.004	0.218±0.005

Analyses were performed with different distributions:

P: Poisson with a log link function for count data,

B: Binomial with a logit link function for binary data,

- G: Gamma with an inverse link function for data expressed in days (d),
- N: Gaussian with an identity link function for data with a normal distribution.

Table 3. Parasitism rate, larval survival and development time, adult sex ratio for *Diaeretiella rapae* reared on *Brevicoryne brassicae* feeding on *Brassica napus*, *B. oleracea*, *B. nigra*, or *S. arvensis*. All data are nested per female parasitoid. Means and \pm S.E. are given for each host plant species with $N = 36$ host plants for *B. napus*, $N = 40$ for *B. oleracea*, $N = 39$ for *B. nigra* and $N = 29$ for *S. arvensis*.

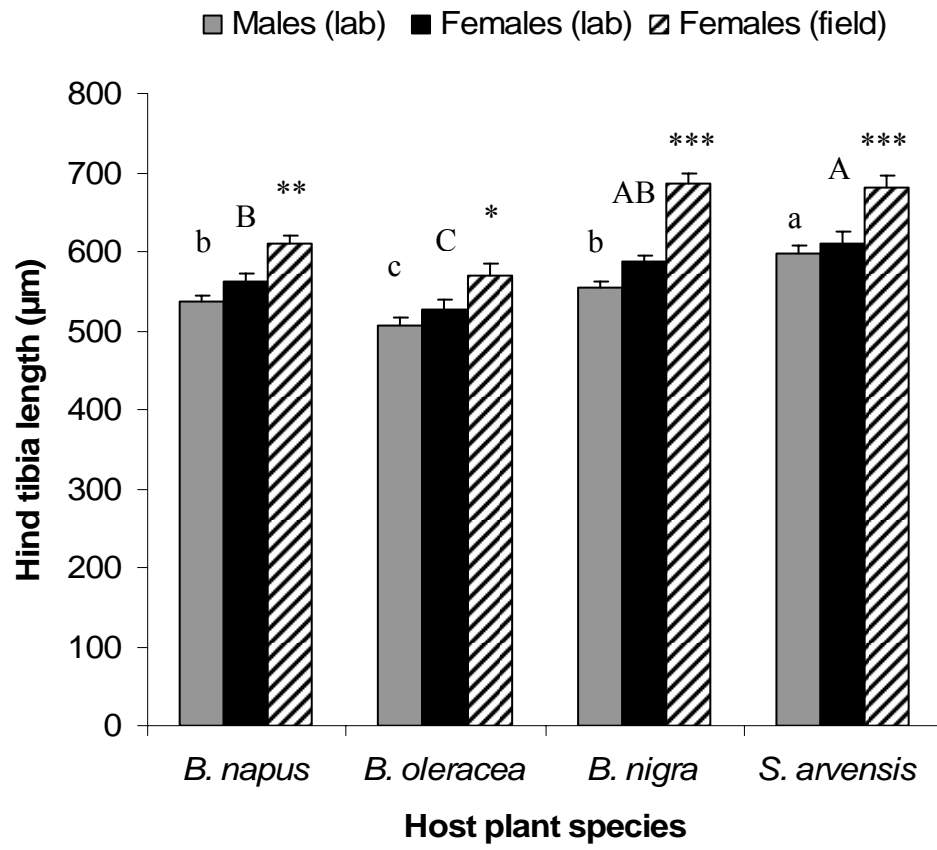
Traits at each stage (Model and significance)	Host plant species			
	<i>B. napus</i>	<i>B. oleracea</i>	<i>B. nigra</i>	<i>S. arvensis</i>
Parasitism rate				
after 5 days (B, $\chi^2 = 11.78$, $P < 0.01$)	0.70 \pm 0.06 ^b	0.59 \pm 0.04 ^a	0.75 \pm 0.05 ^b	0.74 \pm 0.08 ^b
at mummy stage (B, $\chi^2 = 11.81$, $P < 0.01$)	0.64 \pm 0.06 ^b	0.49 \pm 0.05 ^a	0.68 \pm 0.05 ^b	0.60 \pm 0.06 ^b
Larva				
Survival egg to adult (%) (B, $\chi^2 = 7.94$, $P = 0.05$)	0.93 \pm 0.03 ^a	0.93 \pm 0.03 ^a	0.83 \pm 0.04 ^b	0.85 \pm 0.04 ^{ab}
Development time				
egg to mummy (d) (G, $F = 0.17$, $P = 0.98$)	10.69 \pm 0.20	10.73 \pm 0.22	10.65 \pm 0.20	10.57 \pm 0.23
mummy to adult (d) (G, $F = 18.28$, $P < 0.001$)	4.26 \pm 0.14 ^a	4.93 \pm 0.13 ^b	4.41 \pm 0.16 ^a	4.38 \pm 0.17 ^a
Adult				
Sex ratio (% females) (B, $\chi^2 = 3.24$, $P = 0.36$)	0.37 \pm 0.06	0.41 \pm 0.06	0.45 \pm 0.05	0.43 \pm 0.07
Longevity (d) (G, $F = 5.90$, $P = 0.11$)	6.17 \pm 0.29	5.29 \pm 0.26	6.17 \pm 0.32	5.84 \pm 0.30

Analyses were performed with different distributions:

B: Binomial with a logit link function for binary data,

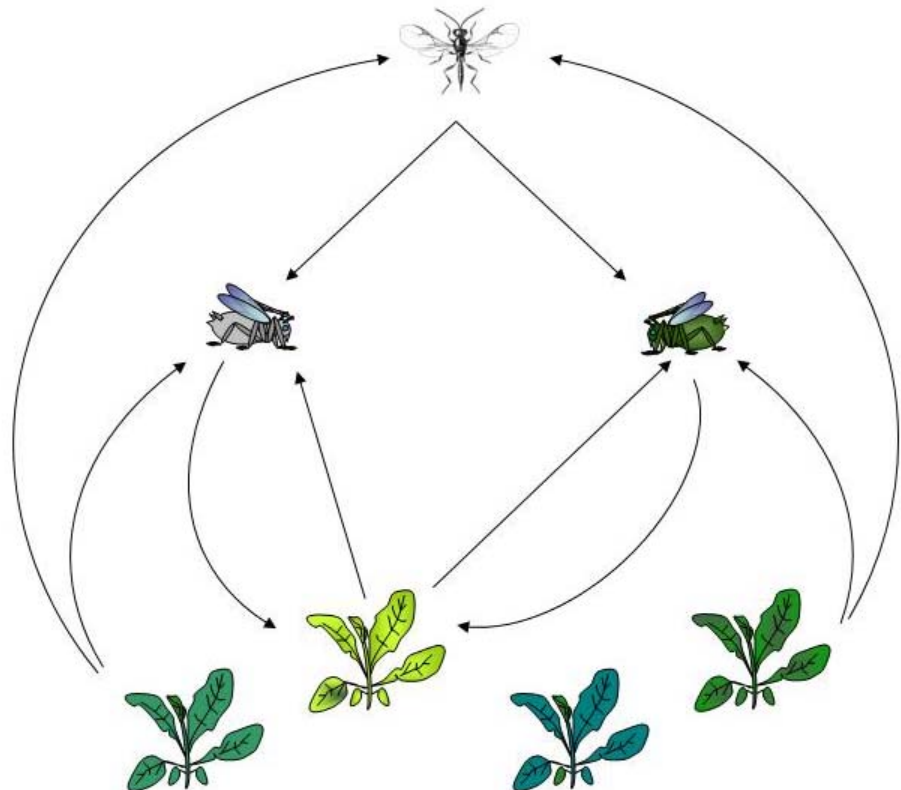
G: Gamma with an inverse link function for data expressed in days (d).

Fig. 1. Hind tibia length (μm) measured as a proxy of *Diaeretiella rapae* body size when its host *Brevicoryne brassicae* fed on *Brassica napus*, *B. oleracea*, *B. nigra*, or *Sinapis arvensis*. In the field, female parasitoids were significantly larger on *S. arvensis* and *B. nigra* and smaller on *B. napus* and on *B. oleracea* (GLM with an identity link function for normally distributed data; $F = 14.02$, $P < 0.001$). In the laboratory, male and female parasitoids were significantly larger on *S. arvensis* and smaller on *B. oleracea* (GEE with an identity link function for normally distributed data; $F = 66.45$, $P < 0.001$). Males were significantly smaller than females on all host plant species ($F = 13.11$, $P < 0.001$). Significant differences among host plants are indicated by stars for field collected parasitoids and letters for laboratory reared parasitoids (capital letters for the female parasitoids and lowercase letters for the males).



Chapitre 2

Influence de la présence de plantes voisines sur la colonisation
des phytophages généralistes et spécialistes et le parasitisme
sur une plante cible



Chapitre 2: Influence de la présence de plantes voisines sur la colonisation des phytophages généralistes et spécialistes et le parasitisme sur une plante cible

Article 1 : L'environnement proche des plantes de la famille des Brassicacées peut influencer la colonisation des plantes par les pucerons spécialistes et généralistes

Article en cours de révision pour *Oecologia*

Auteurs : Pauline Le Guigo, Alexandre Rolier, Josiane Le Corff

Objectifs : Evaluer l'impact de plantes voisines sur le choix des phytophages spécialistes et généralistes pour une plante cible.

Résumé et intérêt de l'étude : Les phytophages peuvent sélectionner une plante en fonction de ses caractéristiques mais également en fonction des caractéristiques des plantes de l'environnement proche. Ainsi la probabilité de colonisation par les phytophages dépend non seulement des caractéristiques individuelles des plantes mais également des caractéristiques des plantes voisines.

Une plante est supposée moins colonisée en présence de plantes voisines répulsives pour les phytophages (hypothèse de résistance par association). Au contraire, cette même plante pourrait être plus colonisée en présence de plantes attractives (hypothèses de susceptibilité par association). A ce jour, les mécanismes qui expliquent l'hypothèse de résistance et de susceptibilité par association ne sont pas vraiment compris. Afin de mieux comprendre le rôle du comportement des phytophages sur les mécanismes de résistance par association, la colonisation naturelle de *B. oleracea* par des pucerons spécialistes et généralistes a été mesurée. *B. oleracea* est entouré soit par six *B. oleracea* (modalité témoin), six *B. napus*, six *B. nigra* ou six *Solanum lycopersicum* qui présentent des niveaux contrastés de défenses physiques et chimiques.

L'attraction des pucerons spécialistes, *Brevicoryne brassicae* pour *B. nigra* et *B. napus* donne lieu à de la susceptibilité par association et une plus grande colonisation de la plante cible *B. oleracea*. La répulsion des pucerons généralistes *Myzus persicae* pour *S. lycopersicum* et *B. nigra* donne lieu à de la résistance par association et à une plus faible colonisation de la plante cible *B. oleracea*. Étonnamment, une résistance par association pour les plantes *B. oleracea* entourées par *B. napus* vis-à-vis des pucerons généralistes *M. persicae* peut également être observée. Les plantes voisines n'ont toutefois pas d'impact sur la colonisation des plantes cibles par *Macrosiphum euphorbiae*. Ainsi, les phytophages spécialistes sembleraient attirés par les composés de défenses des plantes tandis que les phytophages généralistes seraient repoussés. De plus, l'établissement des colonies de phytophages généralistes est plus important lorsque les plantes possèdent des qualités nutritives importantes.

Ainsi, les préférences alimentaires des phytophages et les caractéristiques des plantes déterminent la probabilité d'avoir de la résistance ou de la susceptibilité par association.

4. Neighbourhood of Brassicaceae host plants influences colonization by specialist and generalist aphids

4.1. Abstract

The probability of colonization by herbivorous insects depends not only on a plant's own characteristics but also on the characteristics of its neighbours. A plant might be less colonized and experience associational resistance when it grows near repellent or more attractive neighbours. In contrast, it might be more colonized, suffer more damage, and experience associational susceptibility close to attractive neighbours. To date, mechanisms that drive associational resistance vs. associational susceptibility are not really understood. In order to gain insights into the role of herbivore host preference in determining associational defence, we recorded colonization of *Brassica oleracea* by specialist and generalist aphids under field conditions. *B. oleracea* was surrounded by *B. oleracea* (control), *B. napus*, *B. nigra*, or *Solanum lycopersicum* which represent contrasting levels of physical and chemical defences. Attraction of the specialist aphid *Brevicoryne brassicae* by *B. nigra* and *B. napus* resulted in associational susceptibility and higher colonization of the focal plant *B. oleracea*. Repulsion of the generalist aphid *Myzus persicae* by *S. lycopersicum* and *B. nigra* resulted in associational resistance and lower colonization of *B. oleracea*. Unexpectedly, attraction of *M. persicae* by *B. napus* resulted also in associational resistance and lower colonization of *B. oleracea*. Neighbouring plants had no impact on host plant choice by the generalist aphid *Macrosiphum euphorbiae*. Our results indicate that, in our system, herbivore host preference, insect density, and plant characteristics are all important in determining the probability of associational resistance vs. associational susceptibility.

Keywords : Associational defence, herbivory, indirect interaction, *Brevicoryne brassicae*, *Myzus persicae*

4.2. Introduction

Plant characteristics such as the presence of physical (spines or trichomes) or chemical (constitutive or induced) defences influence the susceptibility of a plant to attack by herbivores (Bernays and Chapman 1994). The composition and characteristics of the neighbouring plant community can also have an impact on the likelihood of a plant to be colonized by herbivorous insects (Atsatt and O'Dowd 1976, see Barbosa et al. 2009 for review).

A plant may gain associational resistance if neighbouring plants mask it, physically or chemically, from searching herbivores, or repel herbivores from its vicinity (repellent plant hypothesis) (Atsatt and O'Dowd 1976). For example, mule's ear *Artemisia tridentata* suffered low damage by generalist grasshoppers close to sagebrush *Wyethia mollis*. Associational resistance in this system is probably due to the release by sagebrush of volatile organic compounds known as feeding deterrents to generalist herbivores (Karban 2007). Similarly, field bean *Vicia faba* was not colonized by the generalist aphid *Aphis fabae* when intercropped with basil *Ocimum basilicum* or savory *Satureja hortensis*. Deterrence by the Lamiaceae due to volatile oils was mostly observed with basil, whereas this plant is a facultative host plant of *A. fabae* (Basedow et al. 2006). Neighbouring plants may also alter the host finding ability of specialist herbivores by masking the odour of their host plants. For example, Hambäck et al. (2000) recorded low damage on purple loosestrife *Lythrum salicaria* in patches of aromatic sweet gale *Myrica gale*. The authors suggested that associational resistance in this system was due to the fact that sweet gale affected the ability of the specialist herbivore *Galerucella californiensis* to find its host either through visual or olfactory interference.

A plant may also gain associational resistance from relatively more palatable neighbours or if these neighbours attract herbivores away from it (attractant-decoy effect) (Atsatt and O'Dowd 1976). Agronomists have advocated the use of attractant-decoy plants as trap crops to decrease damage on susceptible crop species. Classical examples are given by Shelton and Badenes-Perez (2006) and include the use of alfalfa as a trap crop to *Lygus* bugs in cotton fields, or yellow rocket *Barbarea vulgaris* as a dead-end trap crop for diamondback moth *Plutella xylostella* in broccoli or cabbage fields.

Conversely, a plant may suffer associational susceptibility if herbivores are attracted by neighbouring plants that are more apparent or palatable and then switch from a preferred to a less preferred host plant. For example, cottonwoods *Populus angustifolia* × *P. fremontii* growing under box elder *Acer negundo* were more colonized by the generalist geometrid

Alsophila pometaria than cottonwoods growing under conspecifics or in the open. Associational susceptibility in this system was observed only when herbivore density was high (White and Whitham 2000). Moravie et al. (2006) found also evidence for associational susceptibility of healthy thistle *Cirsium arvense* to a generalist stem-boring weevil *Apion onopordi* when growing in the neighbourhood of rust-infected thistles. While weevils prefer and perform better in rust-infected thistles, the mechanisms responsible for host plant choice are not understood (Moravie et al. 2006). In particular, the role of herbivore density in determining herbivore plant preference and the probability of associational susceptibility is not clear (White and Whitham 2000, Russell et al. 2007).

To date, empirical results suggest that associational defence might be quite common (see Barbosa et al. 2009 for review). However, data on mechanisms that drive associational resistance vs. associational susceptibility are limited and it is still difficult to predict the outcome of herbivore-mediated indirect effects for neighbouring plants (Karban 2007). In particular, the degree of herbivore host specialization has rarely been taken into account when searching for associational resistance in plant neighbourhoods characterized by contrasting levels of defences.

Plants in the Brassicaceae family represent a good model for studying trophic interactions due to their well-studied chemistry. Brassicaceae are characterized by the presence of constitutive glucosinolates. Damage of plant tissue facilitates contact of glucosinolates (hereafter GLS) with the enzyme myrosinase, and the subsequent hydrolysis results in the release of a number of volatile compounds such as isothiocyanates and nitriles (see Hopkins et al. 2009 for review). Glucosinolates have contrasting effects on specialist and generalist herbivores: constitutive and induced molecules may deter and repel generalists, while they may provide specialist herbivores with strong feeding and/or oviposition stimuli (see Hopkins et al. for review 2009). Many Brassicaceae specialists have evolved behavioural responses to glucosinolates or their breakdown products, permitting them to find their host plants (Finch and Collier 2000).

In Nature, Feeny (1977) hypothesized that escape from discovery by herbivores is likely to be an important component of Brassicaceae defensive ecology. They may derive protection from specialist herbivores as a result of association with plants of different chemistry. For example, Tahvanainen and Root (1972) showed that odours from tomato plants interfere with the ability of specialist Brassicaceae flea beetles to find their host plants. However, in their study as in others (see Barbosa et al. 2009 for review), neighbouring plants belong to different families. Thus, if all plants in a community are Brassicaceae, the question remains whether

associational resistance vs. associational susceptibility can be observed. To date, associational resistance has been observed only in agrosystems and for a few Brassicaceae specialists such as *Meligethes aeneus* (Hokkanen et al. 1986), *Plutella xylostella* (Shelton and Nault 2004) and *Psylliodes chrysocephala* (Barari et al. 2005). Attraction of the herbivores to a preferred host plant different from the crop led to trap cropping but it is not understood how the foraging behaviour of the herbivores, degree of host plant specialization, and characteristics of the host plants interplay to determine differential attractiveness.

A good system to study associational defence is given by aphids for which volatiles and non-volatile (visual, chemical or physical) cues play a role in host plant selection. Because of their small body size and their low flight speed, aphids disperse over large distances carried by the wind. When leaving the air column, aphids use visual cues that are not specific to their host plants and land on yellow-green objects (Doring and Chittka 2007). Classical studies on flying aphids have thus considered that host plant selection relies primarily on chemical and physical stimuli received after landing (see van Emden and Harrington 2007 for review). However, a number of studies using olfactometers and wind tunnels have shown that flying and walking aphids respond to volatiles from host plants (Niemeyer 1990, Vargas et al. 2005, Powell et al. 2006). Thus, olfaction seems to play a prominent role in both the pre- and post-alighting phases of host plant selection based on volatiles and non-volatiles cues respectively, although the details of the mechanisms are not clear (Niemeyer 1990, Pickett et al. 1992). In particular, so far, too few species have been tested to allow general conclusions on the role of volatiles versus non-volatile cues for aphids that differ in the degree of host plant specialization (Tosch 2003, van Emden and Harrington 2007). It has been proposed that specialist aphids use specific secondary chemicals and generalists nutritional cues to identify their host plants (Moon 1967, Pettersson 1979, Bernays and Funk 1999, Vargas et al. 2005). For example, specialist aphids like *Brevicoryne brassicae* require some specialized signals. Olfactory responses to specific Brassicaceae secondary chemicals have been observed (Nault and Styer 1972, Pettersson 1973, 1979, Nottingham et al. 1991, reviewed in Pickett et al. 1992). On the other hand, generalist aphids like *Myzus persicae* respond to factors related to the nutritional quality of the plants such as amino acid composition and sugar concentration (Wearing 1968) and are repelled by non-host plant odours (Nottingham et al. 1991, Hori 1998). Thus, we expect associational defence to be less likely for generalist than for specialist aphids. To our knowledge, no study has compared, under the same experimental conditions, the influence of neighbouring plants on host plant selection by specialist and generalist aphids.

As part of a research project on trophic interactions between cultivated and wild Brassicaceae and their herbivores, we performed an experiment to determine the influence of neighbouring plants on the colonization of a cultivated *Brassica*. A number of aphid species develop large colonies in *B. oleracea* fields and the attacks are highly detrimental for plant fitness and crop quality. Our null hypothesis was that neighbouring plants would have no impact on the colonization of a focal plant by specialist and generalist aphids. Our alternative hypotheses were:

H₁- Neighbouring plants will cause associational susceptibility to specialist aphids.

H₂- Neighbouring plants will cause associational resistance to generalist aphids.

H₃- In the absence of specific chemical defences, contrasting levels of nutritional quality will cause associational susceptibility (or resistance) to generalist aphids.

4.3. Material and methods

4.3.1. Plants

To test these hypotheses, we selected three Brassicaceae, *Brassica nigra* L., *B. oleracea* L., *B. napus* L., and one Solanaceae, *Solanum lycopersicum* L. All species are annual but they differ in the nature and levels of physical and chemical defences. *B. nigra* is a well-defended wild species. Its leaves are covered with trichomes and this species is particularly rich in GLS with sinigrin as the main molecule. Concentrations of GLS in *B. nigra* are about 10 times higher than in the other two Brassicaceae, while concentrations in the two cultivars of *B. oleracea* and *B. napus* are very similar and relatively low (Le Guigo et al. 2010). *B. oleracea* presents tough waxy leaves. Finally, *S. lycopersicum* presents a different defence system. Its leaves are covered with trichomes and this species is rich in alkaloids known to be toxic for many insects.

Seeds of *B. oleracea* variety *acephala* cv. Bonanza, *B. napus* cv. 'NK Bravour', and *Solanum lycopersicum* cv. 'Saint Pierre' were provided respectively by Baumaux Seeds in Nancy, the technical Centre for Oilseed crops (CETIOM) in Rennes, and Jardiland in Angers (France). Seeds of *B. nigra* were collected from feral populations around Angers (47°28' N, 1°27' E).

All plants were grown from seeds in 14-cm-Ø pots containing a potting substrate consisting of peat (80%), clay (10%) and perlite (10%). Plants were kept between 20-Mar-2009 and 2-Jun-2009 in a greenhouse compartment at AGROCAMPUS OUEST (Angers), maintained at 22±8 °C and 40-80 % r.h. under natural light. To minimize visual differences among species,

all plants had four to five fully expanded true leaves (approximately after 30-35 days) when used in the field experiment.

4.3.2. Field study

To determine whether neighbouring plants had an impact on the colonization of *B. oleracea* by aphids, plants were transported from the greenhouse to a nearby field. The experimental field consisted of ten 5 × 5 m blocks laid out in a homogeneous area of 30.20 × 38.50 m sown with Ray-grass (*Lolium* spp.) in early April 2009 (Fig. 1). The grass was mown and kept short throughout the experiment. Each block included four patches, each with one focal plant in the centre surrounded by six neighbouring plants at a distance of 0.30 m (Fig. 1). The focal plant was always *B. oleracea*. The neighbours were six *B. oleracea* (control), six *B. nigra*, six *B. napus*, or six *S. lycopersicum*. Each focal plant was at least 3.80 m from the nearest one. Because aphids are unlikely to actively travel to plants that are several meters away (Bukovinszky et al. 2005), it was expected that the presence of grass and the greater interplant distance among than within patches, would constrain aphids to colonize and choose host plants at the level of a patch.

The entire experiment was repeated four times between 24-Apr-2009 and 12-Jun-2009 to capture the peaks of aphid colonization. The position of each patch within a block was randomized for each trial. Plants were kept in pots to avoid root competition. Pots were buried. They were watered daily. At the end of each trial, potted plants were removed and replaced with new ones from the greenhouse.

4.3.3. Plant observations

Eleven days after setting up each trial, we monitored focal and neighbouring plants for the occurrence of aphids. Winged (alatae) morphs were distinguished from the wingless (apterae) morphs, enabling us to follow colonization vs. colony development. Alate females are responsible for finding and colonizing new hosts. On the contrary, larvae and apterae exhibit very limited dispersal from their natal plants.

The aphid species (Homoptera:Aphididae) encountered on the plants were the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* L., the peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), and the potato aphid, *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas). The three species represent contrasting levels of host plant specialization: *Br. brassicae* feeds exclusively on plants of the Brassicaceae family. On the other hand, *M. persicae* is heteroecious and may alternate between its primary host, *Prunus persica* L. (Rosaceae), and many herbaceous secondary hosts including Brassicaceae.

Finally, *M. euphorbiae* is highly polyphagous and feeds on over 200 plant species in more than 20 plant families. In temperate regions like the western part of France, all three species that can be easily distinguished in the field reproduce predominantly asexually (Hullé 1999).

4.3.4. Data analysis

To test the influence of neighbouring plants on aphid colonization on the focal plants, a General Linear Mixed Model (GLMM) was used, where the blocks were considered as random factors and identities of the neighbours as fixed factors (Crawley 2007). Similarly, a GLMM was used to test the influence of plant species on aphid colonization on the neighbouring plants and on the entire patch (i.e. focal and neighbouring plants). All analyses were conducted with Poisson errors and a log-link *lme4* package (Bates and Darkar 2007) in R version 2.7.1. Pairwise comparisons between plant species were done with a Bonferroni correction.

4.4. Results

4.4.1. Host plant selection by *Br. brassicae*

A total of 400 winged and 3048 wingless *Br. brassicae* were observed on the experimental host plants between 24-Apr-2009 and 12-Jun-2009. However, colonization by *Br. brassicae* exhibited a clear peak at the third trial with more than 85% of all individuals recorded on 29-May-2009. Thus, only data from that trial were analyzed. Furthermore, as *S. lycopersicum* is not a host plant for the cabbage aphid, this species was not taken into account for data analyses; significant threshold with Bonferroni correction for comparison between plant species was $\alpha_{0.05/3} = 0.017$.

The numbers of winged morphs of the cabbage aphid were not significantly different among focal plants in the different neighbourhoods ($\chi^2 = 4.30$, *d.f.* = 2, $P = 0.12$) (Fig. 2). However, the numbers of wingless aphids were influenced by the identity of the neighbouring plants ($\chi^2 = 54.09$, *d.f.* = 2, $P < 0.001$): significantly fewer aphids were recorded on *B. oleracea* surrounded by *B. oleracea* than on *B. oleracea* surrounded by *B. napus* ($\chi^2 = 12.76$, *d.f.* = 1, $P < 0.001$) or *B. nigra* ($\chi^2 = 53.61$, *d.f.* = 1, $P < 0.001$). Moreover, *B. oleracea* surrounded by *B. napus* was less colonized than *B. oleracea* surrounded by *B. nigra* ($\chi^2 = 14.54$, *d.f.* = 1, $P < 0.001$).

The numbers of winged morphs of the cabbage aphid were also different among neighbours ($\chi^2 = 78.41$, *d.f.* = 2, $P < 0.001$) (Fig. 2). On average, there were four times more aphids on *B.*

nigra (2.57 ± 1.54 aphids per plant) than on *B. oleracea* (0.65 ± 0.32 aphids per plant; $\chi^2 = 73.30$, $d.f. = 1$, $P < 0.001$), and twice as many on *B. napus* (1.18 ± 0.92 aphids per plant) than on *B. oleracea* ($\chi^2 = 9.44$, $d.f. = 1$, $P < 0.01$). *B. nigra* was also significantly more colonized than *B. napus* ($\chi^2 = 31.35$, $d.f. = 1$, $P < 0.001$). The same results were observed for the numbers of wingless aphids on the neighbours (analyses not shown) (Fig. 2). Similarly, at the patch level, more winged and wingless aphids were encountered when *B. nigra* was the neighbouring plant species ($P < 0.001$ for all comparisons) (Fig. 2).

To summarize, colonization of the focal plant, *B. oleracea*, by wingless aphids differed significantly among neighbourhoods: more aphids were recorded on *B. oleracea* surrounded by *B. nigra*, and more winged and wingless *Br. brassicae* were recorded on *B. nigra*.

4.4.2. Host plant selection by *M. persicae*

A total of 699 winged and 3076 wingless *M. persicae* were observed on the experimental host plants between 24-Apr-2009 and 12-Jun-2009. However, colonization by *M. persicae* exhibited a clear peak at the first trial with more than 50% of all individuals recorded on 4-May-2009. Thus, only data from that trial were analyzed. For all pairwise comparisons between plant species, significant threshold with Bonferroni correction was $\alpha_{0.05/6} = 0.008$.

The numbers of winged morphs of the peach aphid were different among focal plants in the different neighbourhoods ($\chi^2 = 11.29$, $d.f. = 3$, $P < 0.05$) (Fig. 3). Significantly more aphids were recorded on *B. oleracea* surrounded by *B. oleracea* than on *B. oleracea* surrounded by *B. napus* ($\chi^2 = 10.24$, $d.f. = 1$, $P < 0.005$), while there was no significant difference with *B. oleracea* surrounded by *B. nigra* ($\chi^2 = 4.76$, $d.f. = 1$, $P = 0.03$) or *S. lycopersicum* ($\chi^2 = 2.15$, $d.f. = 1$, $P = 0.14$). On average, there were three times more winged aphids on *B. oleracea* surrounded by *B. oleracea* than on *B. oleracea* surrounded by *B. napus* (2.8 ± 0.36 vs. 0.9 ± 0.17 respectively). More wingless aphids were also recorded on *B. oleracea* surrounded by *B. oleracea* than by any other plant species ($P < 0.001$ for all comparisons) (Fig. 3).

The numbers of winged morphs of the peach aphid were also different among neighbours ($\chi^2 = 42.75$, $d.f. = 3$, $P < 0.001$) (Fig. 3). More winged aphids were observed on *B. napus* than on *B. nigra* ($\chi^2 = 23.21$, $d.f. = 1$, $P < 0.001$) and on *S. lycopersicum* ($\chi^2 = 28.42$, $d.f. = 1$, $P < 0.001$), and more winged aphids colonized *B. oleracea* than *S. lycopersicum* ($\chi^2 = 15.19$, $d.f. = 1$, $P < 0.001$). More wingless aphids were also recorded on *B. napus* than on any other species ($P < 0.001$ for all comparisons) (Fig. 3). Similarly, at the patch level, more winged and wingless *M. persicae* were encountered on the patches when *B. napus* was the neighbouring plant species ($P < 0.001$ for all comparisons) (Fig. 3).

To summarize, colonization of the focal plant, *B. oleracea*, by winged and wingless *M. persicae* differed significantly among neighbourhoods: more aphids were recorded on *B. oleracea* surrounded by *B. oleracea*, while more *M. persicae* were observed on *B. napus*.

4.4.3. Host plant selection by *M. euphorbiae*

A total of 427 winged and 2973 wingless *M. euphorbiae* were observed on the experimental host plants between 24-Apr-2009 and 12-Jun-2009. As there was no clear peak of colonization, data collected throughout the experiment were combined.

At the four censuses, colonization by *M. euphorbiae* remained low with on average 0.31 ± 0.56 winged aphids per focal plant. There was no significant difference among neighbours with on average 0.41 ± 0.44 winged aphids recorded on the neighbouring plants. Furthermore, the numbers of winged morphs of the potato aphid did not differ significantly among focal plants in the different neighbourhoods ($\chi^2 = 3.57$, $d.f. = 3$, $P = 0.31$).

To summarize, *B. nigra*, *B. napus* or *S. lycopersicum* did not seem to influence the colonization of *B. oleracea* by *M. euphorbiae*.

4.5. Discussion

The results indicate that neighbouring plants had an impact on host plant choice by specialist and generalist aphids. Attraction of *Br. brassicae* by *B. nigra* and *B. napus* resulted in associational susceptibility and higher colonization of the focal plant, *B. oleracea*. Repulsion of *M. persicae* by *S. lycopersicum* and *B. nigra* resulted in associational resistance and lower colonization of *B. oleracea*. Unexpectedly, attraction of *M. persicae* by *B. napus* resulted also in associational resistance and lower colonization of *B. oleracea*. Neighbouring plants had no impact on host plant choice by *M. euphorbiae*. In contrast with many studies on associational defence, all our experimental plants had similar size and the density of potential host plants was the same across patches. As suggested by Barbosa et al. (2009), we could therefore ask which characteristics of the neighbouring plants (besides size or density) could lead to associational defence.

Given the characteristics of the neighbouring plants, our results indicate that olfactory and non-volatile (chemical or physical) cues were involved in host plant selection by aphids. One of the substances that possibly could explain part of our results is sinigrin. Sinigrin is known as a strong phagostimulant for *Br. brassicae* (Wensler 1962, Moon 1967, Wearing 1968, Nault and Styer 1972). In olfactometer bioassays and in a field experiment, sinigrin was also implicated in the attraction of winged *Br. brassicae* (Pettersson 1973, 1979). In our

experiment, we observed more wingless *Br. brassicae* on *B. nigra* than on *B. napus* and *B. oleracea*. This difference was observed at the level of the patch and we can hypothesize that *Br. brassicae* was attracted differently by the three host plants based on olfactory cues and, in particular, the presence of sinigrin and/or isothiocyanates. *B. nigra* is characterized by the highest concentration of sinigrin compared to the two other Brassicaceae. We expect the concentration of specific compounds to play a role in host plant choice by a specialist aphid. Increasing the dose of sinigrin did increase larviposition by *Br. brassicae* in an experiment conducted by Nault and Styer (1972). More recent work conducted in the field demonstrates a significant correlation between *Br. brassicae* infestation rates and constitutive levels of sinigrin and other GLS in *B. nigra* and *B. oleracea* (Lankau 2007, Newton et al. 2009, Poelman et al. 2009). However, in our study, the lower numbers of wingless cabbage aphids on *B. oleracea* compared to *B. napus* cannot be explained by differences in GLS levels as both species are characterized by low concentrations of chemical defences. Secondary metabolites that are not derived from glucosinolates, wax layers or leaf toughness in *B. oleracea*, may have influenced colony development of *Br. brassicae*.

In contrast, very few winged peach aphids were observed on the patches with *B. nigra* and *S. lycopersicum* as neighbours. *M. persicae*, often considered as a generalist, might have been deterred at the patch level by plant secondary compounds encountered in *B. nigra* and *S. lycopersicum*. These two species are characterized by high concentrations of potentially toxic compounds, either GLS or alkaloids. As for specialist aphids, we expect concentration of specific compounds to be important in host plant location and choice by a generalist aphid. However, generalists are usually less sensitive and respond only to high levels of chemical defences (Nault and Styer 1972). *M. persicae* might also have been repelled during leaf exploration by factors such as the trichomes encountered on the leaf surface of *B. nigra* and *S. lycopersicum*. Generalists have usually more difficulties to cope with physical defences such as trichomes (Vargas et al. 2005). *M. persicae* preferentially colonized *B. napus*, the species characterized by the lowest level of physical and chemical defences, and the highest concentration of glucose and sucrose. Sucrose has been found to be a phagostimulant for *M. persicae* (cited in Moon 1967, Wearing 1968). Vargas et al. (2005) observed also significant differences in host selection between a specialist and a generalist form of *M. persicae*. In a wind tunnel experiment and olfactometer bioassays, the specialist form of the peach aphid was able to recognize its host plant (tobacco) more efficiently than the generalist form on the basis of olfactory and visual cues. In contrast, in no-choice tests, winged *M. persicae* were able to discriminate host plants (tobacco vs. pepper) only shortly after alighting based on

physical and chemical cues most probably located at the leaf surface (Margaritopoulos et al. 2005). Thus, both olfactory and non-volatile physical and chemical cues play a role in host plant choice by this generalist species. Furthermore, associational resistance observed in the *B. napus* neighbourhoods indicates that the characteristics of nearby plants can influence host plant preference. As we did not follow the dynamics of colonization after 11 days, we cannot say if associational resistance would have become associational susceptibility and resulted in higher colonization of *B. oleracea*. As noted by White and Whitham (2000), associational susceptibility is likely to occur only when herbivore densities are high and when there is spill over from the preferred to the nearby less preferred host. We cannot say either why the focal plants were more colonized than the neighbours in the *B. oleracea* control patches.

Finally, *M. euphorbiae*, also considered as a generalist, did not show any preference or repulsion for the different environments. This aphid was present at very low numbers on *Solanum* and *Brassica* species. One hypothesis is that *M. euphorbiae* was deterred by Brassicaceae (either through volatile or non-volatile cues). This repulsion resulted in a low colonization of all patches. Another hypothesis is that low natural colonization prevented us from observing differences among patches. From the data collected in 2009, we cannot distinguish between the two alternatives. Populations of *M. euphorbiae* have the tendency to remain at low densities over extended periods (Hullé 1999). A different experimental approach would be necessary to test associational defence for this species. Here, we relied on natural colonization.

To summarize, we observed associational susceptibility to the specialist aphid and associational resistance to one of the two generalist aphids. Host plant discrimination by aphids seems to be influenced at the pre-alighting phase by volatile cues. Then, other factors such as physical characteristics of the host plants (trichomes or wax on the leaf surface) might have been involved. As peaks of colonization by the three species were not synchronous, we expect limited interactions between aphids. However, our experimental design cannot exclude the impact of indirect defences on aphid colonisation and colony development. The influence of neighbouring plants on the colonization of *B. oleracea* by the three species of aphids might have been due to differential attraction of the natural enemies of the aphids to the different patches with, as a consequence, differential impact on the aphid colonies (Dicke and van Loon 2000, Francis et al. 2004). Because the experimental plants were exposed to herbivores and natural enemies for a relatively short period of time (11 days), we attempted to minimize the influence of natural enemies on aphid populations. Further work is needed to examine the influence of neighbouring plants on predation and parasitism. We cannot exclude either the

interaction between plants mediated through herbivore-induced volatiles that might have enhanced either direct or indirect defences in the focal plant. We observed associational resistance to *M. persicae* only when *B. napus* was the neighbouring plant species. In this case, we cannot exclude the possibility of interplant communication. However, if it had happened, we would have expected associational resistance to *Br. brassicae* when *B. oleracea* was surrounded by *B. nigra* or *B. napus*. This result was not observed.

As suggested by Feeny (1977), strategies to improve and diversify chemical resistance would be more effective if they reduce plant apparency. *B. oleracea* is a common crop species that suffers attack from many herbivores. In the context of integrated pest management, habitat manipulation might represent an interesting alternative to the use of insecticides. Our results indicate that neighbouring plants can influence the colonization of *B. oleracea* by aphids. For example, *B. nigra* planted among *B. oleracea* plants could limit the colonization by *M. persicae*. However, it would also increase the colonization by *Br. brassicae*. These results indicate that further work is needed to gain insights into the mechanisms underlying host plant location by specialist and generalist herbivores, in particular the characteristics of the host plants that create differential attractiveness under field conditions.

4.6. Acknowledgements

We thank Rémi Gardet, Jacky Granger and Henri Carpentier from the experimental station of AGROCAMPUS OUEST Angers for logistical support in the greenhouse and in the field, and Isabelle Besse for help with seed collection. The project benefited from suggestions by Yannick Outreman, Anne-Marie Cortesero, Emmanuel Corcket and Claire Campion. We acknowledge the French Ministry of Agriculture for funding. PLG was supported by a graduate fellowship from the region Pays-de-la-Loire (contract # 2007-7623).

4.7. References

- Atsatt PR, O'Dowd DJ (1976) Plant defense guilds. *Science* 193:24-29
- Barari H, Cook SM, Clark SJ, Williams IH (2005) Effect of turnip rape (*Brassica rapa*) on stem-mining pests and their parasitoids in winter oilseed rape (*Brassica napus*). *Biocontrol* 50:69-86
- Barbosa P, Hines J, Kaplan I, Martinson H, Szczepaniec A, Szendrei Z (2009) Associational resistance and associational susceptibility: having right or wrong neighbors. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 40:1-20
- Basedow T, Hua L, Aggarwal N (2006) The infestation of *Vicia faba* L. (Fabaceae) by *Aphis fabae* (Scop.) (Homoptera:Aphididae) under the influence of Lamiaceae (*Ocimum basilicum* L. and *Satureja hortensis* L.). *Journal of Pest Science* 79:149-154
- Bates D, Darkar D (2007) Lme4, linear mixed-effects models using Eigen and R syntax (<http://cran.r-project.org/src/contrib/Descriptions/lme4.html>)
- Bernays EA, Chapman RF (1994) Host-Plant selection by phytophagous insects. Chapman & Hall 84:97-115
- Bernays EA, Funk DJ (1999) Specialists make faster decisions than generalists: experiments with aphids. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 266:151-156
- Bukovinszky T, Potting RJP, Clough Y, van Lenteren JC, Vet LEM (2005) The role of pre- and post-alighting detection mechanisms in the responses to patch size by specialist herbivores. *Oikos* 109:435-446
- Crawley MJ (2007) Mixed effects models. In: *The R book*. Wiley, Chichester, pp 627-660
- Dicke M, van Loon JJA (2000) Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97:237-249
- Doring TF, Chittka L (2007) Visual ecology of aphids: a critical review on the role of colours in host finding. *Arthropod-Plant Interactions* 1:3-16
- Feeny P (1977) Defensive ecology of the Cruciferae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 64:221-234
- Finch S, Collier RH (2000) Host-plant selection by insects - a theory based on 'appropriate/inappropriate landings' by pest insects of cruciferous plants. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 96:91-102
- Francis F, Lognay G, Haubruge E (2004) Olfactory responses to aphid and host plant volatile releases: (E)- β -Farnesene an effective kairomone for the predator *Adalia bipunctata*. *Journal of Chemical Ecology* 30:741-755

- Hambäck PA, Ågren J, Ericson L (2000) Associational resistance: insect damage to purple loosestrife reduced in thickets of sweet gale. *Ecology* 81:1784-1794
- Hokkanen H, Granlund H, Husberg GB, Markkula M (1986). Trap crops used successfully to control *Meligethes aeneus* (Col., Nitidulidae), the rape blossom beetle. *Annales Entomologici Fennici* 52:115-120
- Hopkins RJ, van Dam NM, van Loon JJA (2009) Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annual Review of Entomology* 54:57-83
- Hori M (1998) Repellency of rosemary oil against *Myzus persicae* in a laboratory and in a screenhouse. *Journal of Chemical Ecology* 24:1425-1432
- Hullé M (1999) Les pucerons des plantes maraîchères: cycles biologiques et activités de vol. Editions QUAE, Paris
- Karban R (2007) Associational resistance for mule's ears with sagebrush neighbors. *Plant Ecology* 191:295-303
- Lankau RA (2007) Specialist and generalist herbivores exert opposing selection on a chemical defense. *New Phytologist* 175:176-184
- Le Guigo P, Qu Y, Le Corff J (2010) Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid. *Basic and Applied Ecology*. In press
- Margaritopoulos JT, Tsourapas C, Tzortzi M, Kanavaki OM, Tsitsipis JA (2005) Host selection by winged colonisers within the *Myzus persicae* group: a contribution towards understanding host specialisation. *Ecological Entomology* 30:406-418
- Moon MS (1967) Phagostimulation of a monophagous aphid. *Oikos* 18:96-101
- Moravie M-A, Borer M, Bacher S (2006) Neighbourhood of host plants influences oviposition decisions of a stem-boring weevil. *Basic and Applied Ecology* 7:545-554
- Nault LR, Styer WE (1972) Effects of sinigrin on host selection by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 15:423-437
- Newton E, Bullock JM, Hodgson D (2009) Bottom-up effects of glucosinolate variation on aphid colony dynamics in wild cabbage populations. *Ecological Entomology* 34:614-623
- Niemeyer HM (1990) The role of secondary plant compounds in aphid-host interactions. In: RK Campbell and RD Eikenbary (eds) *Aphid-plant genotype interactions*. Elsevier Science Publishers, Amsterdam, pp 187-205
- Nottingham SF, Hardie J, Dawson GW, Hick AJ, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM (1991) Behavioral and electrophysiological responses of aphids to host and non host plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 17:1231-1242

- Pettersson J (1973) Olfactory reactions of *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hom.:Aph.) Swedish Journal of Agricultural Research 3:95-103
- Pettersson J (1979) Aphids and host plant communication. Symbolae botanicae upsalienses XXII (4):108-113
- Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM, Hardie J (1992) The chemical ecology of aphids. Annual Review of Entomology 37:67-90
- Poelman EH, van Dam NM, van Loon JJA, Vet LEM, Dicke M (2009) Chemical diversity in *Brassica oleracea* affects biodiversity of insect herbivores. Ecology 90:1863-1877
- Powell G, Tosh CR, Hardie J (2006) Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. Annual Review of Entomology 51:309-330
- Russell FL, Louda SM, Rand TA, Kachman SD (2007) Variation in herbivore-mediated indirect effects of an invasive plant on a native plant. Ecology 88:413-423
- Shelton AM, Nault BA (2004) Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamond back moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera:Plutellidae). Crop protection 23:497-503
- Shelton AM, Badenes-Perez FR (2006) Concepts and applications of trap cropping in pest management. Annual Review of Entomology 51:285-308
- Tahvanainen JO, Root RB (1972) The influence of vegetational diversity on the population ecology of a specialized herbivore, *Phyllotreta cruciferae* (Coleoptera:Chrysomelidae). Oecologia 10:321-346
- Tosh CR, Powell G, Hardie J (2003) Decision making by generalist and specialist aphids with the same genotype. Journal of Insect Physiology 49:659-669
- van Emden HF, Harrington R (2007) Aphids as Crop Pests. CABI Editions, London
- Vargas RR, Troncoso AJ, Tapia DH, Olivares-Donoso R, Niemeyer HM (2005) Behavioural differences during host selection between alate virginoparae of generalist and tobacco-specialist *Myzus persicae*. Entomologia Experimentalis et Applicata 116:43-53
- Wearing CH (1968) Responses of aphids to pressure applied to liquid diet behind parafilm membrane. Longevity and larviposition of *Myzus persicae* (Sulz.) and *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera:Aphididae) feeding on sucrose and sinigrin solutions. New Zealand Journal of Science 11:105-121
- Wensler RJD (1962) Mode of host selection by an aphid. Nature 195:830-831
- White JA, Whitham TG (2000) Associational susceptibility of cottonwood to a box elder herbivore. Ecology 81:1795-1803

Fig. 1 The layout of the field experiment (as example, between 24-Apr-2009 and 4-May-2009). Please note that the figure is not scaled. Ten blocks of four patches each were embedded in a field of mown Ray-grass. Each patch consisted of one focal plant (always *Brassica oleracea*) surrounded by six neighbours: *B. oleracea* (Bo), *B. nigra* (Bni), *B. napus* (Bna), or *S. lycopersicum* (So). The experiment was repeated four times between April and June 2009.

Fig. 2 Colonization by winged and wingless individuals of the specialist aphid, *Brevicoryne brassicae*. For representation, the numbers of aphids (winged or wingless) were averaged per neighbouring plant ($n = 6$). Mean number of winged aphids (\pm SE) encountered after 11 days on the focal plants (always *Brassica oleracea*) did not differ among neighbourhoods. However, there were more wingless aphids on *B. oleracea* surrounded by *B. nigra* than on *B. oleracea* surrounded by either *B. napus* or *B. oleracea*. More winged and wingless aphids were also recorded on *B. nigra* than on *B. napus* or *B. oleracea* as neighbours. Different letters indicate significant differences between neighbourhoods: italics refer to wingless aphids, lowercase letters to focal plants, and capital letters to neighbours.

Fig. 3 Colonization by winged and wingless individuals of the generalist aphid, *Myzus persicae*. For representation, the numbers of aphids (winged or wingless) were averaged per neighbouring plant ($n = 6$). Mean number of winged aphids (\pm SE) encountered after 11 days on the focal plants (always *Brassica oleracea*) differed among neighbourhoods with more aphids encountered on *B. oleracea* surrounded by *B. oleracea*. There were also more wingless aphids on *B. napus* than on *B. oleracea*, *B. nigra* or *Solanum lycopersicum* as neighbours. Different letters indicate significant differences between neighbourhoods: italics refer to wingless aphids, lowercase letters to focal plants, and capital letters to neighbours.

Fig. 1

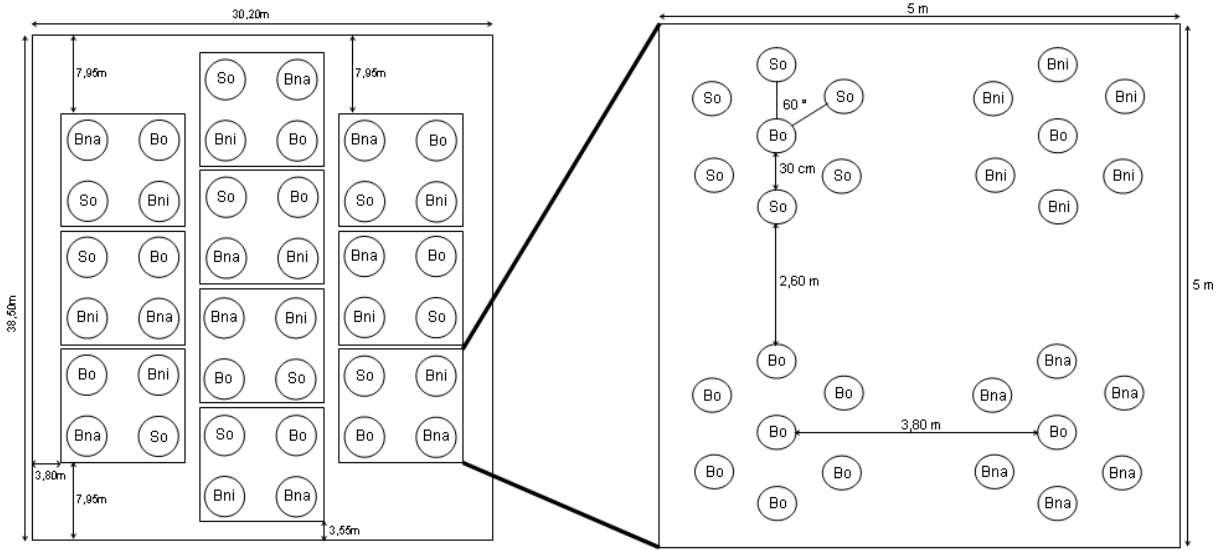


Fig. 2

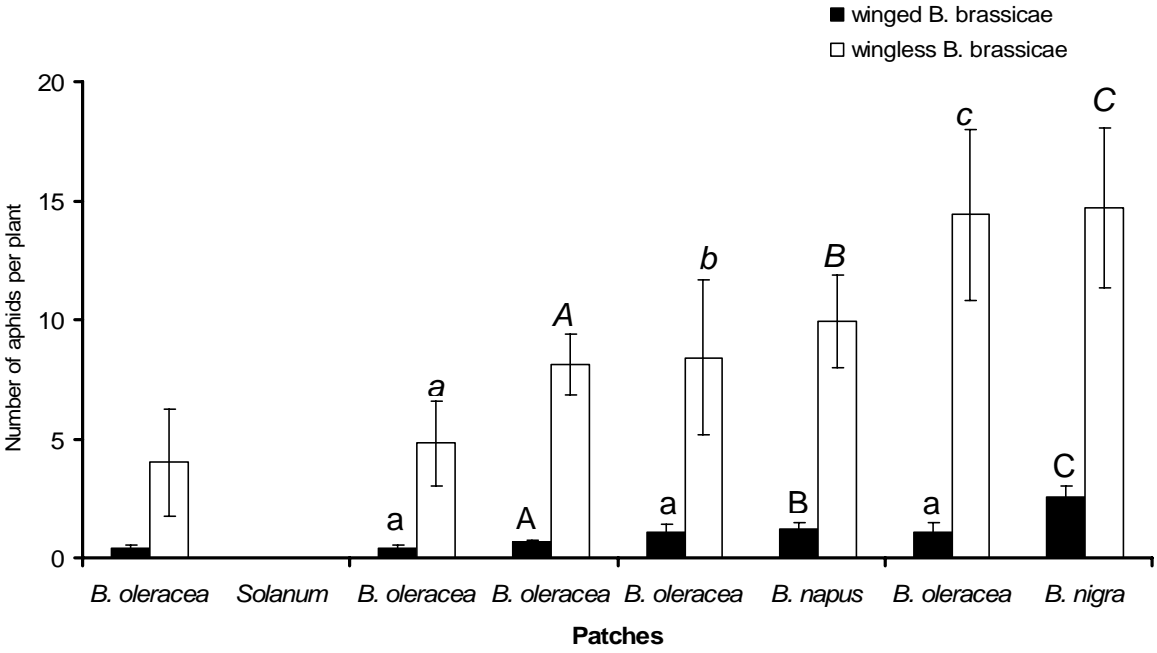
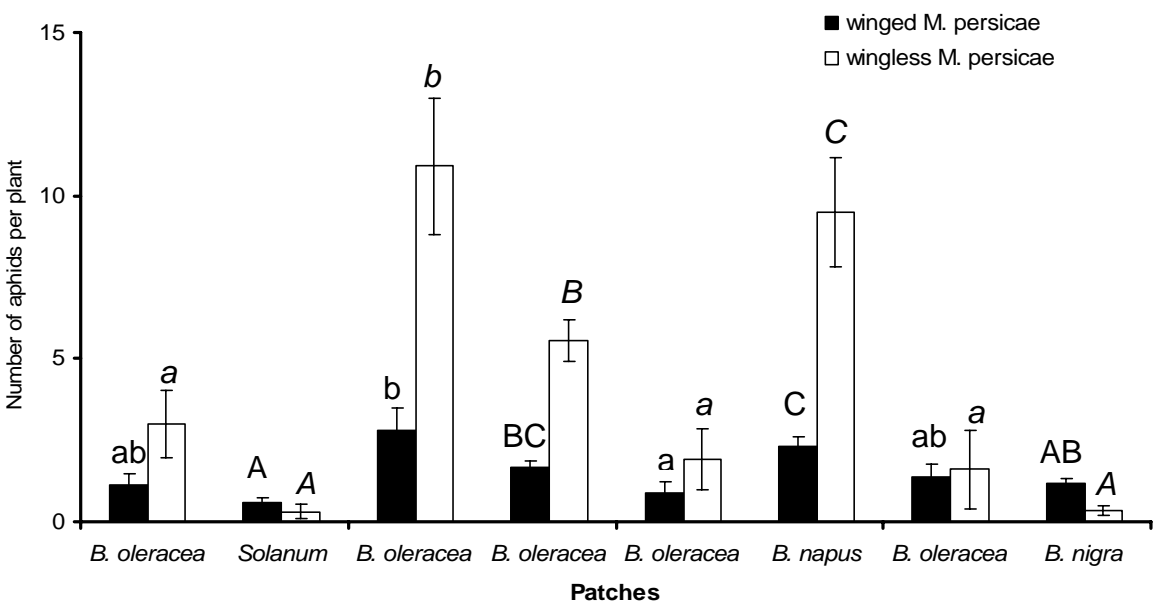


Fig. 3



Chapitre 2: Influence de la présence de plantes voisines sur la colonisation des phytophages généralistes et spécialistes et le parasitisme sur une plante cible

Article 2 : Résistance par association pour une plante contre un puceron spécialiste *via* l'attraction des parasitoïdes pour les plantes voisines
Article en préparation pour *Oikos*

Auteurs : Pauline Le Guigo, Josiane Le Corff

Objectifs : Evaluer l'impact de plantes voisines sur le choix des parasitoïdes pour une plante cible.

Résumé et intérêt de l'étude : Afin de lutter contre les phytophages, les plantes peuvent se défendre par des défenses directes ou indirectes. Outre l'impact des caractéristiques individuelles des plantes sur le comportement des parasitoïdes, les caractéristiques des plantes voisines peuvent également influencer les défenses indirectes d'une plante cible. A ce jour, l'impact des plantes voisines sur le taux de parasitisme des plantes cibles n'a pourtant reçu que peu d'attention.

Le but de cette étude est de tester si des plantes voisines saines ou infestées peuvent protéger les plantes cibles et de relier le taux de parasitisme observé aux comportements de choix des parasitoïdes pour le complexe plante-phytophage. Ainsi, le taux de parasitisme de *Brevicoryne brassicae* sur *Brassica oleracea* a été mesuré sur le terrain et le comportement des parasitoïdes *Diaeretiella rapae* a été suivi en laboratoire.

Sur le terrain, les plantes cibles *B. oleracea* préalablement infestées par dix *B. brassicae* sont entourées par six *B. oleracea* sains mais sujets à la colonisation naturelle (modalité témoin), six *B. napus*, six *B. nigra* ou six *Solanum lycopersicum* qui présentent des niveaux contrastés de défenses chimiques. En laboratoire, les plantes cibles *B. oleracea* préalablement infestées par dix *B. brassicae*, sont entourées soit par trois *B. oleracea* (modalité témoin), trois *B. napus* ou trois *B. nigra*, tous sains ou tous infestées.

Les expériences de terrain montre un taux de parasitisme plus important de *Brevicoryne brassicae* par *Diaeretiella rapae* sur la plante cible *B. oleracea* quand elle est entourée par *B. napus*, et les expériences de laboratoire montre que les parasitoïdes *D. rapae* choisissent préférentiellement les plantes voisines saines *B. napus* puis passent sur les plantes cibles infestées *B. oleracea*.

Ainsi, les plantes voisines *B. napus* protègent les plantes cibles *Brassica oleracea* contre *Brevicoryne brassicae* par attraction du parasitoïde spécialiste *Diaeretiella rapae*. Cette étude est la première à montrer clairement une attraction du parasitoïde pour les plantes voisines conduisant à un phénomène de résistance par association pour la plante cible.

5. Associational resistance against a specialist aphid by attraction of a parasitoid to the neighbouring host plants

5.1. Abstract

Against herbivores, plants can defend themselves directly by the production of toxic compounds, or indirectly by the attraction of natural enemies. However, the attraction of parasitoids may depend not only on a plant's own characteristics but also on the characteristics of its neighbours. A plant might gain benefits from neighbouring plants that attract parasitoids. To date, mechanisms that drive associational resistance mediated through the natural enemies are not really understood. The aim of this study was to test if neighbouring plants could provide protection to a focal plant by increasing the probability of parasitism on the herbivores present on the focal plant. We recorded parasitism rate by the parasitoid *Diaeretiella rapae* on the aphid *Brevicoryne brassicae* feeding on *Brassica oleracea* under field conditions. We also observed parasitoid behaviour under laboratory conditions. In the field, infested *B. oleracea* were surrounded by either healthy (but subject to natural colonization by herbivores) *B. oleracea* (control), *B. napus*, *B. nigra*, or *Solanum lycopersicum*. In the laboratory, infested *B. oleracea* was surrounded by either healthy or infested *B. oleracea* (control), or by *B. napus* or *B. nigra*. Neighbours were either healthy (without herbivores) or had been infested previously with ten *Br. brassicae* that were removed just before each trial. Field experiments indicate higher parasitism by *D. rapae* of *Br. brassicae* on *B. oleracea* surrounded by *B. napus*. In the lab, the first landing of *D. rapae* occurred more often on healthy *B. napus*. To summarize, field results agree with the lab observations and indicate that *B. napus* as neighbours benefit to *B. oleracea* by increasing the attraction of the specialist parasitoid *D. rapae*. This study is the first to show that parasitoid attraction through neighbouring plant species may lead to associational resistance for a focal plant.

Keywords: volatile organic compounds, behaviour, parasitism, *Brevicoryne*, *Diaeretiella*, *Brassica*, *Solanum*

5.2. Introduction

An important challenge in ecology is to understand how interactions between herbivores and their natural enemies can be indirectly influenced by their host plants, and how differences in plant characteristics can influence the performance of insect herbivores and natural enemies (Price et al., 1980; Ode 2006). Recently, many studies have focused on the role of plant volatiles in shaping multitrophic interactions (Turlings et al., 1990; Dicke 2009). Volatiles are either produced constitutively by the plant, or can be induced after herbivore attack. In both cases, herbivores may use plant volatile compounds to find their food. Similarly, natural enemies such as parasitoids may employ plant volatile compounds to locate their hosts. Then, the emission of plant volatiles can be considered as an indirect defence because attraction of the parasitoids should reduce herbivore damage, and thus increase plant fitness. However, benefits to the plant have been rarely demonstrated (Dicke & van Loon, 2000).

Unexpectedly, in a few examples, the production of volatile secondary compounds has been shown to benefit other plants. This phenomenon is called associational resistance mediated by the natural enemies, and refers to the associational resistance defined by Atsatt and O'Dowd (1976). In more general terms, associational resistance implies that a plant may gain resistance through its neighbours if they decrease herbivore colonization or increase parasitoid attraction. It should be noted that associational resistance mediated by the natural enemies is likely to occur only when there is spill over of the parasitoids from the neighbouring plants. The first evidence came from Stiling et al. (2003) who observed that the addition of *Borrchia frutescens* to a community of *Iva frutescens* increased the effectiveness of the parasitoid *Torymus umbilicatus* on the herbivore *Asphondylia borrichiae*. The authors hypothesized that parasitoids spilled over from infested *B. frutescens* to infested *I. frutescens*, and as result, parasitism rate on *I. frutescens* was higher in the presence of *frutescens*. In this case, *I. frutescens* benefited from the addition of neighbouring plants that shared the same parasitoid. However, there was no clear indication of the cues that explained the preference of *T. umbilicatus* to *B. frutescens*. More recently, it has been hypothesized that plants suffering herbivore attacks could trigger the production of volatile organic compounds by their neighbours, even in the absence of damage on those neighbours (Engelberth et al., 2004). Only one study clearly supports this hypothesis. Ton et al. (2007) observed that maize plants started producing volatile organic compounds in the presence of damaged neighbouring plants. The production of volatile compounds, especially terpenoids, by the healthy host plants attracted the parasitoid *Cotesia marginiventris*. In this case, induced priming of indirect defences by a plant was clearly a response to the emission of volatile organic compounds by its neighbours. Moreover, if plants may respond to cues produced by damaged neighbours even when themselves have not been attacked, there is also

some evidence that, even in the absence of herbivores, plants can benefit from the attraction of parasitoids to their neighbouring plants (Bukovinszky et al., 2007). However, more work is needed to clarify the mechanisms that can explain associational resistance mediated through the natural enemies.

Plants in the Brassicaceae family represent a good model for studying tritrophic interactions due to well-studied chemistry. Brassicaceae are characterized by the presence of glucosinolates, a very diverse group of secondary compounds. Damage of plant tissue facilitates contact of glucosinolates (hereafter GLS) with the enzyme myrosinase, and the subsequent hydrolysis results in the release of a number of volatile compounds such as isothiocyanates and nitriles (see Hopkins et al. 2009 for review). The concentration and composition of constitutive and induced GLS differ widely among members of the family (Fahey et al. 2001). Glucosinolates have contrasting effects on insects: constitutive and induced molecules may deter herbivores, while they may provide parasitoids with strong oviposition stimuli (see Hopkins et al. for review 2009). Parasitoids are attracted by induced specific compounds such as 4-isothiocyanatobut-1-ene (4-BUT-ITC) and 3-isothiocyanatoprop-1-ene (3-PROP-ITC) produced by some Brassicaceae species after attack by herbivores (Blande et al. 2007, Bradburne & Mithen 2000, Pope et al., 2008), whereas constitutive glucosinolates have been reported to be less attractive to parasitoids (Benrey et al., 1997, Bukovinszky et al., 2005, Connor et al., 2007, Ohara et al., 2003).

To date, there is little evidence that *Brassica* plants can benefit from the emission of volatile organic compounds from neighbouring plants, especially if the neighbours are also Brassicaceae. Soler et al. (2007a) observed that plants of *Brassica nigra* that are attacked by the root herbivore *Delia radicum* provided protection to their neighbours against another herbivore *Pieris brassicae*. Induced volatile compounds emitted by the damaged neighbours attracted one of the parasitoids of *P. brassicae*, *Cotesia glomerata* (Soler et al., 2007b). Moreover, Gols et al. (2005) and Bukovinsky et al. (2007) showed that in the presence of *Sinapis alba*, the preference of the parasitoid *Diadegma semiclausum* for *Brassica oleracea* attacked by *Plutella xylostella* was higher than in monospecific patches. However, in none of these studies, benefits to the focal plant were evaluated.

To determine whether plants can benefit from volatile compounds emitted by their neighbours, we asked the following questions: (i) Is parasitism rate on a focal plant influenced by its neighbours?, (ii) Do neighbours provide associational resistance through increased attraction of the parasitoids even when they are not damaged by herbivores?, and (iii) Do different species of neighbours differ in the probability of attracting parasitoids to a focal plant? To answer these questions, we conducted a field experiment and observations in the laboratory. We selected

three *Brassica* species, an aphid specialist of the family, *Brevicoryne brassicae*, and its parasitoid, *Diaeretiella rapae*. *B. oleracea*, *B. nigra* and *B. napus* present contrasting levels and profiles of GLS. *B. nigra* is the species with the highest concentration of aliphatic GLS, while concentrations in *B. oleracea* and *B. napus* are relatively low (Le Guigo et al., 2010). For the field experiment, we also considered *Solanum lycopersicum* (Solanaceae), a plant species rich in alkaloids.

5.3. Materials and methods

5.3.1. Plants

Seeds of *Brassica oleracea* variety *acephala* cv. Bonanza, *B. napus* cv. ‘NK Bravour’, and *S. lycopersicum* cv. ‘Saint Pierre’ were provided respectively by Baumaux Seeds in Nancy, the technical Centre for Oilseed crops (CETIOM) in Rennes, and Jardiland in Angers (France). Seeds of *B. nigra* were collected from feral populations around Angers (47°28’ N, 1°27’ E).

All plants were grown from seeds in 14-cm-Ø pots containing a potting substrate consisting of peat (80%), clay (10%) and Perlite (10%). Plants were grown in a greenhouse compartment at AGROCAMPUS OUEST (Angers), maintained at 22±8 °C and 40-80 % r.h. under natural light between March and July 2009 for the field experiment and between March and July 2010 for the laboratory observations. To minimize visual differences among species, all plants had four to five fully expanded true leaves (approximately after 30-35 days) when used in the experiments.

5.3.2. Insects

The herbivore, *Br. brassicae*, and its endoparasitoid, *D. rapae*, were originally collected in 2005 from cabbage fields near Angers. Cultures of *Br. brassicae* have been maintained at the AGROCAMPUS OUEST laboratory facilities on potted *B. oleracea* variety *acephala* cv. Bonanza in a climate chamber at 22±1 °C, 70±10 % r.h., and 16 h L: 8 h D photoperiod. Field collected aphids were added to the stock colonies every year to maintain genetic diversity. *D. rapae* has been reared for several generations on *B. oleracea* infested with *Br. brassicae* in a growth chamber with a 16 h L: 8 h D photoperiod, a temperature of 18±1 °C and 70±20 % r.h. Adults were provided *ad libitum* with a 5 % honey solution and a mixture of pollen, honey and yeast. Field collected parasitoids were added to the stock colonies every year to maintain genetic diversity.

5.3.3. Field study

To determine whether neighbouring plants could influence parasitism on a focal plant, plants were transported from the greenhouse to a nearby field. The experimental field consisted of ten

5 × 5 m blocks laid out in a homogeneous area of 30.20 × 38.50 m sown with Ray-grass (*Lolium* spp.) in early April 2009 (Figure 1). The grass was mown and kept short throughout the experiment. Each block included four patches, each with one focal plant in the centre surrounded by six neighbouring plants at a distance of 0.30 m (Figure 1). The focal plant was always *B. oleracea* previously infested with ten *Br. brassicae* that had been placed on the plant the day before. The neighbours were six *B. oleracea* (control), six *B. nigra*, six *B. napus*, or six *S. lycopersicum*. Each focal plant was at least 3.80 m from the nearest one.

The entire experiment was repeated four times, between 16-Jun-2009 to 10-Aug-2009 to capture the natural peaks in parasitoid abundance. The position of each patch within a block was randomized for each trial. Plants were kept in pots to avoid root competition and pots were buried. They were watered daily. At the end of each trial, all potted plants were removed and replaced by new ones from the greenhouse. Eleven days after setting up each trial, we recorded the number of healthy and parasitized aphids on the focal plants. We also recorded the others herbivores such as caterpillars, pollen beetles or bugs observed on focal and neighbouring plants. As development of the parasitoid from egg to mummy takes approximately 10 days for *D. rapae* on *Br. brassicae* (Le Guigo et al., 2010), we brought all the focal plants to the lab and counted, every three days, the number of mummies for a period of 25 days. All new mummies were killed at each census.

5.3.4. Bioassays

To determine whether neighbouring plants could influence parasitism on a focal plant, even when they are not damaged by herbivores, plants were transported from the greenhouse to the laboratory. For each trial, two plants of *B. oleracea* were previously infested with ten *Br. brassicae* and then were placed on the two opposite side of a Plexiglas cage (60 × 39, 5 × 39, 5 cm). These plants were either surrounded by three *B. oleracea* (control) or by three *B. napus* or *B. nigra* (Figure 2). Neighbouring plants were healthy or infested beforehand by 10 *Br. brassicae*. Aphids were kept three hours on the plant and then removed.

Each trial was conducted with a different female. Before each trial, in order to eliminate parasitoids with unusual behaviour, one 1-day-old, mated and fed female parasitoid was allowed to oviposit in one aphid reared on *B. oleracea*. Then, parasitoid was placed in the centre of the cage. The experiment started when the female began to walk and finished when it had landed on one neighbour followed by one focal plant. We recorded on which plant (either focal or neighbour) the parasitoid first landed, and measured the time it took. Each modality was repeated 15 to 31 times between 12-Apr-2010 and 30 June 2010.

5.3.5. Data analyses

To test the influence of neighbouring plants on the parasitism rate on the focal plants, a General Linear Mixed Model (GLMM) was used, where the blocks were considered as random factors and identities of the neighbours as fixed factors (Crawley 2007). We accounted also for the aphid density. All analyses were conducted with Binomial errors and a log-link *lme4* package (Bates and Darkar 2007). Pairwise comparisons between plant species were done with a Bonferroni correction. For the data collected in the lab, a Generalized Linear Model (GLM) was used to analyze non-nested data. Time was analyzed with a Gamma distribution and an inverse link function, and choice with a Binomial distribution and a logit link function. All computations were done in R version 2.7.1.

5.4. Results

5.4.1. Field study

Neighbouring plants suffered attacks by a number of herbivores such as pollen beetle, bugs, caterpillars and aphids. During the whole experiment, 1070 *Meligethes aeneus*, 85 *Lygus pratensis*, 32 caterpillars (*Pieris rapae*, *Mamestra brassicae* or *Plutella xylostella*), 205 *Brevicoryne brassicae*, 20 *Myzus persicae* and 5 *Macrosiphum euphorbiae* were observed on the 960 neighbouring plants. However, to calculate parasitism rate, we only considered the number of aphids recorded on the focal plants: 4344 *B. brassicae*, 131 *Myzus persicae* and 60 *Macrosiphum euphorbiae* on 160 focal plants. We only observed parasitism of *B. brassicae* by *D. rapae*.

On the focal plant *B. oleracea*, percent parasitism did not differ between neighbourhoods for the first ($\chi^2 = 5.10$, *d.f.* = 3, *p* = 0.165) and second trial ($\chi^2 = 6.88$, *d.f.* = 3, *p* = 0.075) (from 16 June to 10-July-2009) but significant differences were observed for the third ($\chi^2 = 130.7$, *d.f.* = 3, *p* < 0.0001) and fourth ($\chi^2 = 100.55$, *d.f.* = 3, *p* < 0.0001) periods (from 17 July to 10-August-2009). The parasitism rate on *B. oleracea* was higher when it was surrounded by *B. napus* than by *B. oleracea* during both periods ($\chi^2 = 10.78$, *d.f.* = 1, *p* < 0.01 and $\chi^2 = 11.86$, *d.f.* = 1, *p* < 0.001 respectively ($\alpha_{\text{adjusted}} = 0.0083$), and lower when it was surrounded by *S. lycopersicum* than by *B. oleracea* ($\chi^2 = 28.90$, *d.f.* = 1, *p* < 0.001 and $\chi^2 = 45.48$, *d.f.* = 1, *p* < 0.001 respectively). It did not differ significantly when *B. oleracea* was surrounded by *B. nigra* or by *B. oleracea* ($\chi^2 = 3.59$, *d.f.* = 1, *p* = 0.058 and $\chi^2 = 3.77$, *d.f.* = 1, *p* = 0.052 respectively) (Figure 3).

5.4.2. Bioassays

The percentage of responses was similar when the neighbouring *B. napus* were either infested with *Br. brassicae* or healthy (50% vs. 73%, $\chi^2 = 1.80$, $d.f. = 1$, $p = 0.179$) (Figure 4). In contrast, less parasitoids (58%) made a choice when the neighbours were plants of *B. nigra* that had been infested than when *B. nigra* had not been infested (93%, $\chi^2 = 7.02$, $d.f. = 1$, $p < 0.01$).

Among the parasitoids that make a choice, most of them landed on the focal and the neighbouring plants with healthy *B. napus* as neighbours (Figure 4). However, the parasitoids took the same time to land on a neighbour or on the focal plant (672 ± 134 seconds; $F = 1.25$, $d.f. = 5$, $p = 0.304$; and 2121 ± 356.5 seconds; $F = 1.51$, $d.f. = 5$, $p = 0.246$ respectively).

5.5. Discussion

In the field experiment, *Br. brassicae* experienced a higher parasitism rate by *D. rapae* on *B. oleracea* surrounded by *B. napus*. This result was confirmed by the laboratory observations that showed that *D. rapae* landed more often on *B. napus* and then on the focal *B. oleracea*. Thus, these two experiments seem to indicate that *B. oleracea* may benefit from *B. napus* as neighbours, and as a consequence, *B. napus* may provide associational resistance to the focal plants mediated by the attraction of parasitoids. Unexpectedly, we observed a clear choice of *D. rapae* for healthy *B. napus*, while all hypotheses on associational resistance mediated through the natural enemies have considered only a potential beneficial influence of neighbours that are attacked by herbivores (but see Ton et al. 2007).

Healthy plants are supposed to produce green leaf volatiles (GLV). GLV are also considered as non-specialized indicators of herbivore damage and have been reported to be important for host seeking parasitoids (Jonsson and Anderson 2007). The attraction of *D. rapae* for *B. napus* might be due to the emission of GLV such as Z-3-hexenal (Jonsson and Anderson 2007). Similarly, Shiojiri et al. (2006) showed that E-2-hexenal and Z-3-hexenyl acetate attracted the parasitoid *Cotesia glomerata*. Moreover, Vaughn et al. (1996) clearly showed that female antennae of *D. rapae* responded to Z-3-hexen-1-ol. Here, we supposed that healthy *B. napus* emitted more detectable Z-3-hexenal than *B. oleracea* and *B. nigra*, or that Z-3-hexenal could be masked by others compounds in the trials with *B. oleracea* and *B. nigra*. However, GLV alone can not explain the attraction of the parasitoids. Other compounds might be responsible for the attraction of *D. rapae* to *B. napus*. For example, subtle differences in volatile profiles of uninfested plants could be important. Bukovinsky et al. (2005) stated that possible differences in concentration or in the ratio of chemical compounds could lead to differential attraction of the parasitoid *Diadegma semiclausum* to *B. oleracea* and *S. alba*.

Healthy and infested plants differ in the emission of volatile organic compounds. Most studies show that infested plants are more attractive than healthy ones. For example, *D. rapae* is attracted by allyl-ITC (Bradburne & Mithen 2000, Read et al., 1970, Reed et al., 1995, Titayavan & Altieri 1990), and seems to respond more to allyl-ITC than to GLV (Shiojiri et al., 2006). Vaughn et al. (1996) also clearly showed that female antennae of *D. rapae* are more sensitive to allyl-ITC than to Z-3-hexen-1-ol. In our case, the non-attraction for ITC in the field as in the laboratory is difficult to explain. In the field, the non-attraction by *D. rapae* for the ITC emitted by *B. nigra* subject to natural colonization may be explained by the fact that these plants were colonized by large numbers of herbivores that are non hosts of *D. rapae*. Neighbouring plants in our experiments mostly supported damage by chewing insects. Parasitoid species such as *Cotesia rubecula* (van Poecke et al., 2003) and *D. rapae* (Agbogba & Powell 2007) are able to discriminate the type of herbivore damage. Thus, non-attraction to plants damaged mostly by chewing herbivores could have happened.

In the laboratory, *D. rapae* made less choices in trials where the neighbours were infested *B. nigra* compared to trials with non-infested *B. nigra* (58% vs. 93%). As learning odour process seems to be very important for parasitoids during host plant searching (Gols et al., 2005), we suppose that parasitoid responses for *B. nigra* is not innate and require allyl-ITC learning. The parasitoid females used in the laboratory experiments had one experience on aphids reared on *B. oleracea* and not on *B. nigra*. We can hypothesize that previous experience with aphids reared on *B. nigra* could lead to a higher attraction for infested *B. nigra*. Our hypothesis is supported by Blande (2004) who showed that “naïve” parasitoids did not prefer the odour of infested plants over non-infested plants. An alternative hypothesis is that volatile organic compounds emitted by infested *B. nigra* saturated the atmosphere in the Plexiglass cages. A different experimental design could be used to separate these alternative hypotheses.

Finally, our field results indicate a lower parasitism rate on *B. oleracea* surrounding by *S. lycopersicum*. We can suppose that the Solanaceae odours derived from the alkaloids encountered in the leaves could interfere with the parasitoid host plant finding. Volatile interferences have been shown in a number of systems. For example, Loivamäki et al (2008) showed that isoprene emitted by poplars or willows interfere with the attraction of the parasitoid *Diadegma semiclausum* by herbaceous hosts plants. *D. rapae* is considered as a specialist of Brassicaceae (Antolin et al., 2006). As such, neighbouring *S. lycopersicum* could have interfered with host seeking by *D. rapae*.

Both our field and laboratory studies indicate that parasitism rate observed on a focal plant is influenced by the neighbouring plants. Gols et al. (2005) observed that once a parasitoid has landed on plant with hosts, its behaviour is no longer influenced by the surrounding vegetation.

Thus, the parasitoid choices observed in our laboratory experiments might explain the parasitism rate estimated from the field experiments. Observations conducted in the laboratory stress the need to carry out both chemical analyses and behavioural bioassays in order to fully understand the mechanism of parasitoid attraction, and associational resistance mediated through natural enemies. To summarize, our study indicates that the attraction of the parasitoid *D. rapae* by *B. napus* provided associational resistance to *B. oleracea* against *Br. brassicae*. This study is the first to suggest that emission of volatile compounds by healthy neighbours could lead to associational resistance for a focal plant.

5.6. Acknowledgements

We thank Alexandre Rolier and Quentin Protsenko for data acquisition, Rémi Gardet, Jacky Granger and Henri Carpentier from the experimental station of AGROCAMPUS OUEST Angers for logistical support in the greenhouse and in the field, Michèle Travers, Férreol Brault, and Isabelle Besse for technical assistance. The project benefited from suggestions by Yannick Outreman, Anne-Marie Cortesero, Emmanuel Corcket and Claire Champion. We acknowledge the French Ministry of Agriculture for funding. PLG was supported by a graduate fellowship from the region Pays-de-la-Loire (contract # 2007-7623).

5.7. References

- Atsatt PR, O'Dowd DJ (1976) Plant defense guilds. *Science* 193:24-29
- Agbogba, B. C. and Powell, W. 2007. Effect of the presence of a nonhost herbivore on the response of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to host-infested cabbage plants. - *Journal of Chemical Ecology* 33: 2229-2235.
- Antolin, M. F., Bjorksten, T. A. and Vaughn, T. T. 2006. Host-related fitness trade-offs in a presumed generalist parasitoid, *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae). - *Ecological Entomology* 31: 242-254.
- Bates, D. and Darkar, D. 2007. lme4: linear mixed-effects models using S4 classes. -
- Benrey, B., Denno, R. F. and Kaiser, L. 1997. The influence of plant species on attraction and host acceptance in *Cotesia glomerata* (Hymenoptera: Braconidae). - *Journal of Insect Behavior* 10: XXX.
- Blande, J. D. 2004. Differential signalling from specialist and generalist *Brassica* feeding aphids to differentially adapted aphid parasitoids. faculty of medicine, health and life sciences. - University of Southampton.
- Blande, J. D., Pickett, J. A. and Poppy, G. M. 2007. A comparison of semiochemically mediated interactions involving specialist and generalist *Brassica*-feeding aphids and the braconid parasitoid *Diaeretiella rapae*. - *Journal of Chemical Ecology* 33: 767-779.
- Bradburne, R. P. and Mithen, R. 2000. Glucosinolate genetics and the attraction of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to Brassica. - *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 267: 89-95.
- Bukovinszky, T., Gols, R., Hemerik, L., van Lenteren, J. C. and Vet, L. E. M. 2007. Time allocation of a parasitoid foraging in heterogeneous vegetation: implications for host-parasitoid interactions. - *Journal of Animal Ecology* 76: 845-853.
- Bukovinszky, T., Gols, R., Posthumus, M. A., Vet, L. E. M. and van Lenteren, J. C. 2005. Variation in plant volatiles and attraction of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Hellen). - *Journal of Chemical Ecology* 31: 461-480.
- Connor, E. C., Rott, A. S., Samietz, J. and Dorn, S. 2007. The role of the plant in attracting parasitoids: response to progressive mechanical wounding. - *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 125: 145-155.
- Crawley, M. J. 2007. Mixed effects models. - In: *The R book*. John Wiley & Sons Ltd, pp. 627-660.
- Dicke, M. 2009. Behavioural and community ecology of plants that cry for help. - *Plant Cell and Environment* 32: 654-665.

- Dicke, M. and van Loon, J. J. A. 2000. Multitrophic effects of herbivore-induced plant volatiles in an evolutionary context. - *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 97: 237-249.
- Engelberth, J., Alborn, H. T., Schmelz, E. A. and Tumlinson, J. H. 2004. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. - *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 1781-1785.
- Fahey, J. W., Zalcman, A. T. and Talalay, P. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. - *Phytochemistry* 56: 5-51.
- Gols, R., Bukovinszky, T., Hemerik, L., Harvey, J. A., Van Lenteren, J. C. and Vet, L. E. M. 2005. Reduced foraging efficiency of a parasitoid under habitat complexity: implications for population stability and species coexistence. - *Journal of Animal Ecology* 74: 1059-1068.
- Hopkins, R. J., van Dam, N. M. and van Loon, J. J. A. 2009. Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. - *Annual Review of Entomology* 54: 57-83.
- Jonsson, M. and Anderson, P. 2007. Emission of oilseed rape volatiles after pollen beetle infestation; behavioural and electrophysiological responses in the parasitoid *Phradis morionellus*. - *Chemoecology* 17: 201-207.
- Le Guigo, P., Qu, Y. and Le Corff, J. In press. Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid. - *Basic and Applied Ecology*.
- Loivamäki, M., Mumm, R., Dicke, M. and Schnitzler, J. P. 2008. Isoprene interferes with the attraction of bodyguards by herbaceous plants. - *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 17430-17435.
- Ohara, Y., Takafuji, A. and Takabayashi, J. 2003. Response to host-infested plants in females of *Diadegma semiclausum* Hellen (Hymenoptera : Ichneumonidae). - *Applied Entomology and Zoology* 38: 157-162.
- Ode, P. J. 2006. Plant chemistry and natural enemy fitness: Effects on herbivore and natural enemy interactions. *Annual Review of Entomology*, 51, 163-185.
- Price, P. W., Bouton, C. E., Gross, P., McPherson, B. A., Thompson, J. N., & Weis, A. E. 1980. Interactions among three trophic levels: Influence of plants on interactions between insect herbivores and natural enemies. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 11, 41-65.
- Pope, T. W., Kissen, R., Grant, M., Pickett, J. A., Rossiter, J. T. and Powell, G. 2008. Comparative Innate Responses of the Aphid Parasitoid *Diaeretiella rapae* to Alkenyl Glucosinolate Derived Isothiocyanates, Nitriles, and Epithionitriles. - *Journal of Chemical Ecology* 34: 1302-1310.

- Read, D. P., Feeny, P. P. and Root, R. B. 1970. Habitat selection by the aphid parasite *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) and hyperparasite *Charips brassicae* (Hymenoptera: cynipidae). - The Canadian Entomologist 102: 1567-1578.
- Reed, H. C., Tan, S. H., Haapanen, K., Killmon, M., Reed, D. K. and Eklliott, N. C. 1995. Olfactory responses of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (hymenoptera: Aphidiidae) to odor of plants, aphids, and plant-aphid complexes. - Journal of Chemical Ecology 21: 407-418.
- Shiojiri, K., Ozawa, R., Matsui, K., Kishimoto, K., Kugimiya, S. and Takabayashi, J. 2006. Role of the lipoxygenase/lyase pathway of host-food plants in the host searching behavior of two parasitoid species, *Cotesia glomerata* and *Cotesia plutellae*. - Journal of Chemical Ecology 32: 969-979.
- Soler, R., Harvey, J. A., Kamp, A. F. D., Vet, L. E. M., van der Putten, W. H., van Dam, N. M., Stuefer, J. F., Gols, R., Hordijk, C. A. and Martijn Bezemer, T. 2007a. Root herbivores influence the behaviour of an aboveground parasitoid through changes in plant-volatile signals. - Oikos 116: 367-376.
- Soler, R., Harvey, J. A. and Martijn Bezemer, T. 2007b. Foraging efficiency of a parasitoid of leaf herbivore is influenced by root herbivory on neighbouring plants. - Functional Ecology 21: 969-974.
- Stiling, P., Rossi, A. M. and Cattell, M. V. 2003. Associational resistance mediated by natural enemies. - Ecological Entomology 28: 587-592.
- Titayavan, M. and Altieri, M. A. 1990. Synomone-mediated interactions between the parasitoid *Diaeretiella rapae* and *Brevicoryne brassicae* under field conditions. - Entomophaga 35: 499-507.
- Ton, J., D'Alessandro, M., Jourdie, V., Jakab, G., Karlen, D., Held, M., Mauch-Mani, B. and Turlings, T. C. J. 2007. Priming by airborne signals boosts direct and indirect resistance in maize. - Plant Journal 49: 16-26.
- Turlings, T. C. J., Tumlinson, J. H. and Lewis, W. J. 1990. Exploitation of Herbivore-Induced Plant Odors by Host-Seeking Parasitic Wasps. - Science 250: 1251-1253.
- van Poecke, R. M. P., Roosjen, M., Pumarino, L. and Dicke, M. 2003. Attraction of the specialist parasitoid *Cotesia rubecula* to *Arabidopsis thaliana* infested by host or non-host herbivore species. - Entomologia Experimentalis Et Applicata 107: 229-236.
- Vaughn, T. T., Antolin, M. F. and Bjostad, L. B. 1996. Behavioral and physiological responses of *Diaeretiella rapae* to semiochemicals. - Entomologia Experimentalis et Applicata 78: 187-196.

Figure 1 The layout of the field experiment (as example, Trial 1, between 16 and 26-June-2009). Please note that the figure is not scaled. Ten blocks of four patches each were embedded in a field of mown Ray-grass. Each patch consisted of one focal plant (always *Brassica oleracea* infested with ten *Brevicoryne brassicae*) surrounded by six neighbours: *B. oleracea* (Bo), *B. nigra* (Bni), *B. napus* (Bna), or *S. lycopersicum* (So). The experiment was repeated four times between June and August 2009.

Figure 2 The layout of the bioassays. Please note that the figure is not scaled. Each modality consisted of one focal plant (always *Brassica oleracea* infested with ten *Brevicoryne brassicae*) surrounded by three neighbours. *B. oleracea* surrounded by three *B. oleracea* is considered as the control group. Four modalities were tested: infested *B. oleracea* are surrounded either by three *B. oleracea* vs. three *B. napus*, healthy (N=15)-example shown in the Figure- or infested (N=16), vs. three *B. nigra*, healthy (N=15) or infested (N=31).

Figure 3: Parasitism rate by *Diaeretiella rapae* on *Brevicoryne brassicae* on the focal plant (*Brassica oleracea*) surrounded by *Solanum lycopersicum*, *B. oleracea*, *B. nigra* or *B. napus* series. Statistical tests indicate that the parasitism rate of *D. rapae* on *B. brassicae* is higher on *B. oleracea* surrounded by *B. napus* than by *B. oleracea*, and lower on *B. oleracea* surrounded by *S. lycopersicum* than by *B. oleracea* (GLMM test with N = 10 per trial). Different letters indicate significant differences between neighbourhoods: lowercase letters refer to the third trial and capital letters refer to the fourth trial.

Figure 4: Parasitoid choice of *Diaeretiella rapae* for the infested focal plant (*Brassica oleracea*) and for the neighbouring plant species (*B. oleracea* (Bo), *B. napus* (Bna) or *B. nigra* (Bni)), healthy or previously infested by ten *B. brassicae* (aphids were then removed before the experiment). *B. oleracea* surrounded by *B. oleracea* represents the control. Statistical tests show that *D. rapae* prefers healthy *B. napus* ($p < 0.05$) and then goes to the infested focal *B. oleracea* ($p < 0.05$) (binomial test). Stars indicate a significant difference, N, the number of trials for each modality.

Fig. 1

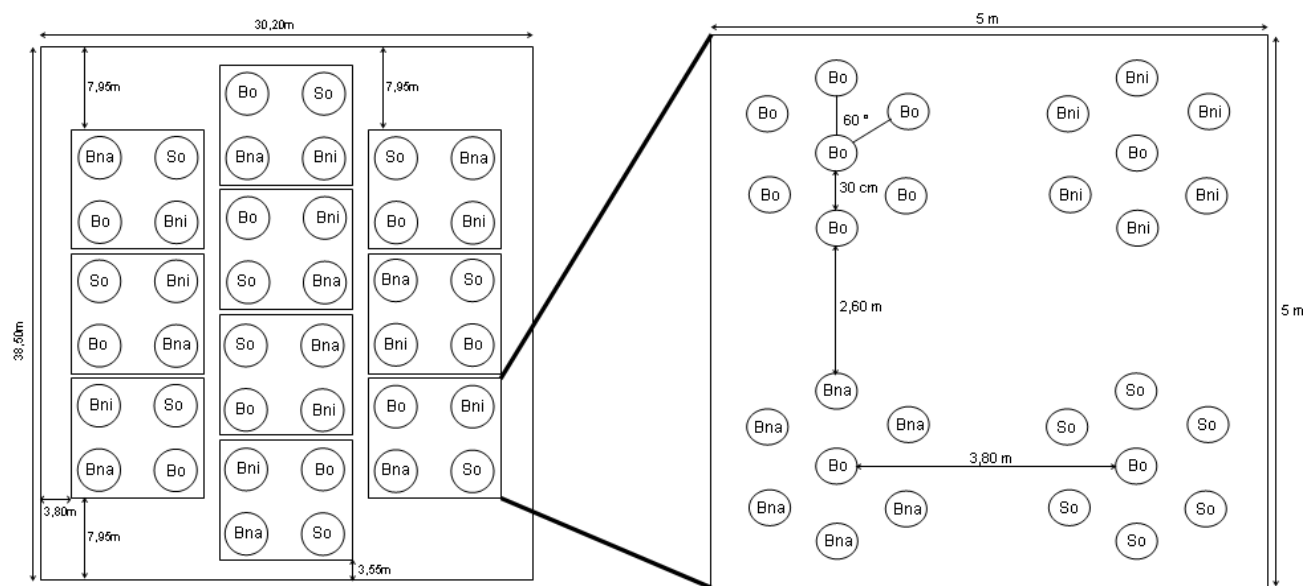


Fig.2

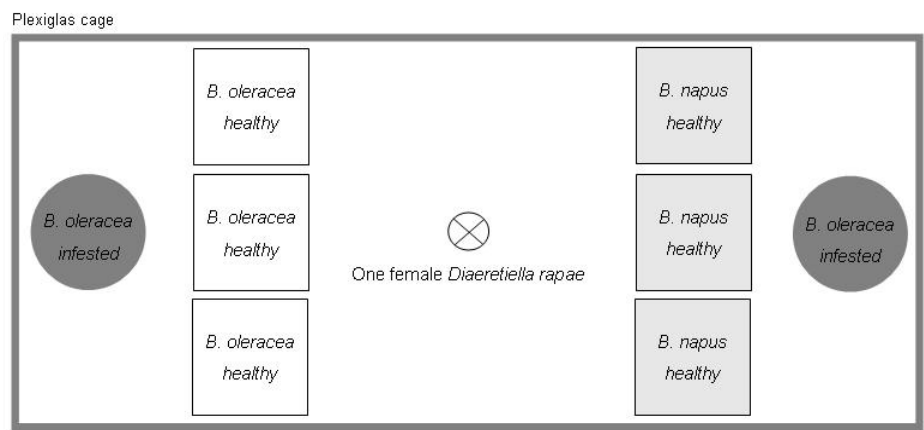


Fig. 3

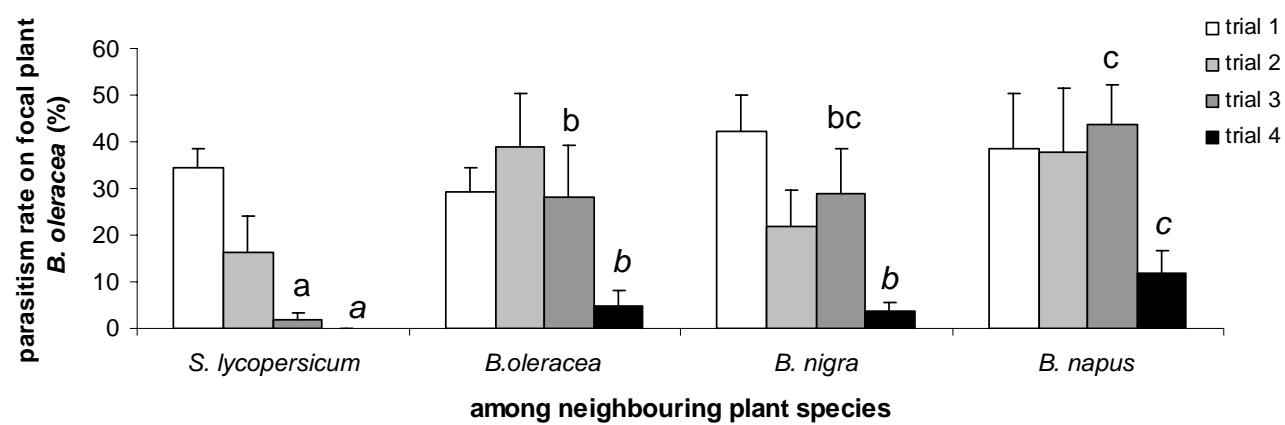
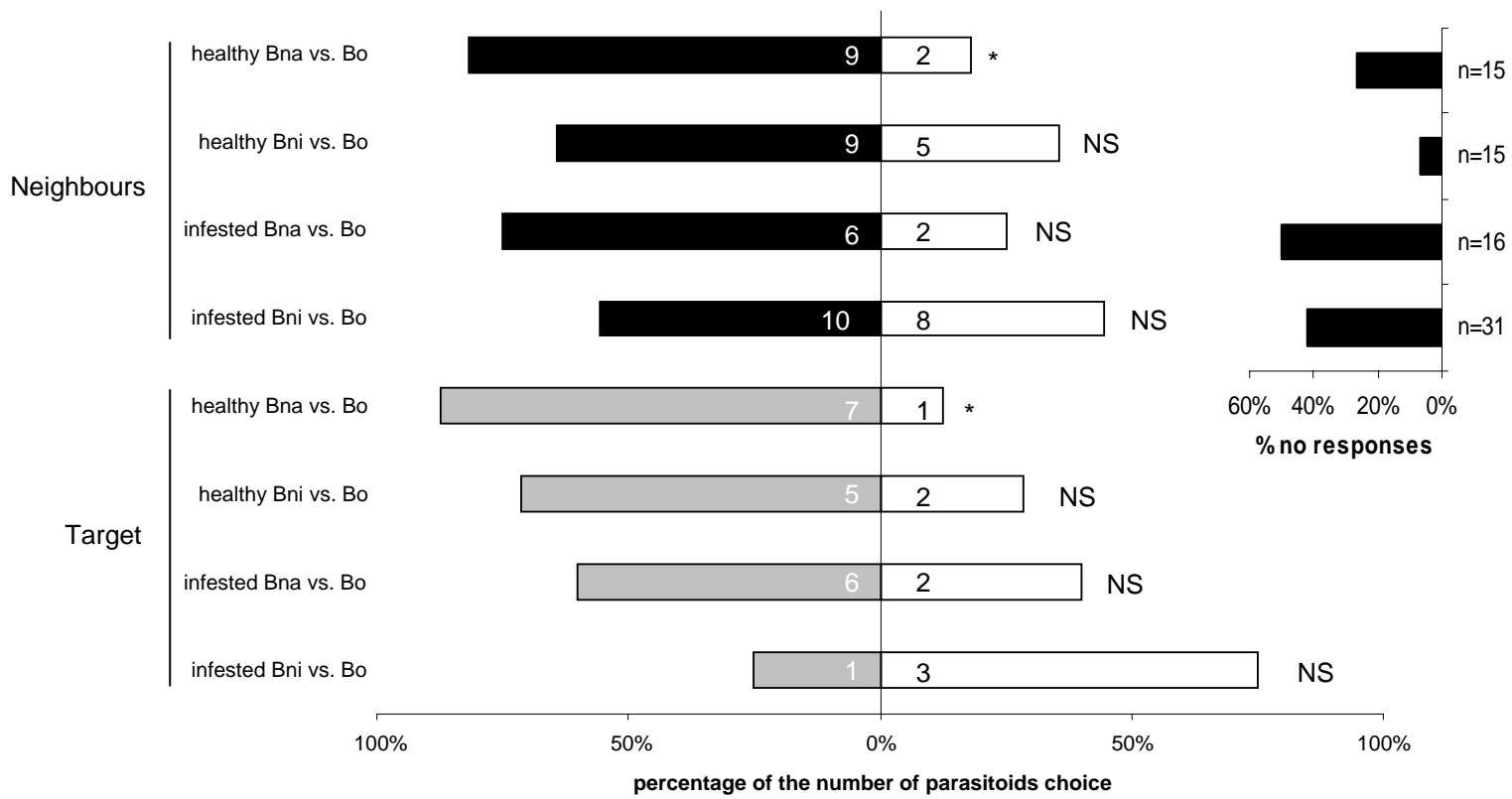


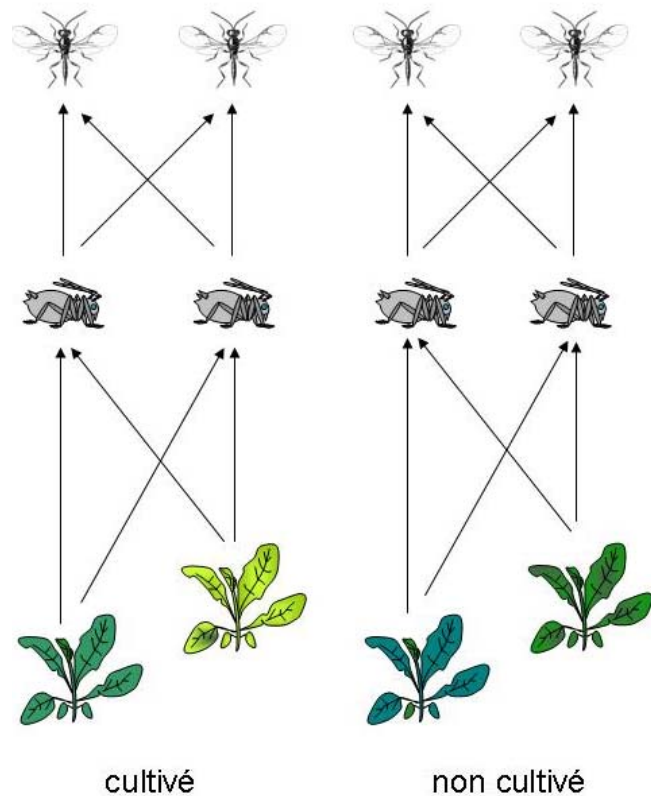
Fig 4.



Chapitre 3

Structuration génétique des populations de pucerons *Brevicoryne brassicae* et de son parasitoïde *Diaeretiella rapae* par les plantes hôtes

Ce chapitre est actuellement en cours de rédaction et des analyses génétiques complémentaires sont en cours d'acquisition.



6. Les populations du parasitoïde *Diaeretiella rapae* contrairement à celles de son hôte *Brevicoryne brassicae* sont structurées par leurs plantes hôtes, cultivées et sauvages.

6.1. Introduction

Les plantes hôtes, de par leur disponibilité spatiale, temporelle et leurs caractéristiques physiques et/ou chimiques peuvent avoir un impact sur le comportement et les performances des phytophages et générer en conséquence une structuration des populations (voir Funk et al., 2002). Par exemple, un éloignement géographique ou la présence de barrières physiques entre des groupes de plantes hôtes a entraîné une structuration spatiale des populations des phytophages *Utetheisa ornatrix* (Cogni and Futuyma, 2009), *Myzus persicae* (Guillemaud et al., 2003; Margaritopoulos et al., 2007), *Acanthoscelides obtectus* (Restoux et al., 2010) et *Sitobion avenae* (Simon et al., 1999). De même, la phénologie et la disponibilité dans le temps des plantes hôtes ont entraîné une structuration des populations de phytophages en fonction du caractère pérenne ou annuel des plantes chez *Acyrtosiphon pisum* (Frantz et al., 2006) et *Sitobion avenae* (Vialatte et al., 2005). De plus, les différences morphologiques, physiologiques ou chimiques entre espèces de plantes hôtes ont entraîné une structuration des populations des phytophages *Sitobion avenae* (Haack et al., 2000), *Rhinusa antirrhini* (Hernandez-Vera et al., 2010), *Sesamia nonagrioides* (Leniaud et al., 2006) *Ostrinia nubilalis* (Martel et al., 2003), *Maconellicoccus hirsutus* (Rosas-Garcia et al., 2010), *Hesperotettix viridis* (Sword et al., 2005) et *Aphis gossypii* (Vanlerberghe-Masutti and Chavigny, 1998). La préférence des phytophages pour certaines plantes hôtes sur la base de critères liés à la nutrition ou à l'oviposition a pu entraîner des modifications du comportement de sélection de la plante hôte conduisant à une différenciation génétique de leurs populations (Hernandez-Vera et al., 2010; Martel et al., 2003; Sword et al., 2005). L'exemple le plus connu est celui des larves de la mouche de la pomme *Rhagoletis pomonella* dont la spéciation est étroitement liée aux choix de pontes des phytophages (Forbes and Feder, 2006; Michel et al., 2007). Malgré le fait que la « fidélité » des adultes aux plantes hôtes soit évidente chez cette espèce, les raisons de cette préférence restent indéterminées, et la divergence génétique entre populations pourrait être due à des différences dans la durée d'éclosion des larves en fonction

de l'espèce de plante hôte (Feder et al., 2003), ou à une attraction différentielle par les phéromones sexuelles.

Les composés de défenses pourraient aussi expliquer des choix différents de la part des phytophages et entraîner une structuration génétique des populations. Par exemple, Toneatto et al. (2010) montrent que les populations de phytophages *Phyllotreta nemorum* se développant sur des lignées de *Barbarea vulgaris* caractérisées par des concentrations et des compositions en glucosinolates différents, sont génétiquement différentes. Figueroa et al. (2004) montrent également qu'il existe plus de génotypes rares de puceron *Sitobion avenae* sur les plantes riches en acides hydroxamiques, que sur les plantes sans acides hydroxamiques et que ces génotypes rares sont plus performants sur les plantes présentant ces mécanismes de défenses que les génotypes communs. Ces résultats suggèrent une adaptation de la part de certains phytophages aux défenses des plantes. Cette adaptation est supposée pouvoir entraîner une structuration génétique des populations de phytophages.

Les parasitoïdes sont des ennemis naturels qui se développent aux dépens de leurs hôtes et utilisent les composés de défenses émis par les plantes suite aux attaques de phytophages pour localiser leurs hôtes (Dicke, 2009). L'attraction des parasitoïdes par les composés de défenses des plantes est supposée pouvoir entraîner une structuration des populations de parasitoïdes. Néanmoins à ce jour, une telle structuration ne semble pas avoir clairement été mise en évidence.

Cependant des caractéristiques autres que les défenses des plantes peuvent avoir entraîné une structuration des populations de parasitoïdes en fonction des espèces de plantes. Actuellement, seule l'étude de Stireman et al. (2006) montre une structuration des populations de parasitoïdes *Platygaster variabilis* et *Copidosoma gelechiae* en fonction de l'espèce de plante hôte *Solidago* spp. Toutefois, les populations de phytophages *Rhopalomyia solidaginis* et *Gnorimoschema gallaesolidaginis* étant également structurées par la plante, il n'est pas possible de savoir si la structuration des populations de parasitoïdes est liée à la plante, ou aux phytophages. Jourdie et al. (2010) montrent que les femelles parasitoïdes de *Chelonus insularis* et *Campoletis sonorensis* semblent rester préférentiellement sur la même espèce de plantes hôtes (maïs ou sorgho) que celles dont elles émergent pour se reproduire (« host fidelity »), ce qui peut renforcer la formation de races d'hôtes en fonction des espèces de plantes. Néanmoins, ces auteurs ne mettent pas en évidence de structuration génétique des populations de parasitoïdes en fonction des espèces de plantes. De même, malgré la structuration des populations de phytophages en fonction des espèces de plantes (divers arbres fruitiers (Lozier et al., 2009); *Phaseolus* (Aebi et al., 2008)), la recherche d'une structuration

des populations de parasitoïdes par ces auteurs en fonction des espèces de plantes a été infructueuse.

L'éloignement spatial des plantes peut également avoir entraîné une structuration des populations de parasitoïdes en fonction de la région (Lozier et al., 2009) ou de l'altitude (Aebi et al., 2008) des plantes. Les faibles capacités de dispersion des parasitoïdes et la présence de barrière physique pourraient expliquer que cet éloignement spatial ait entraîné une structuration. La différenciation génétique des populations de parasitoïdes s'expliquerait donc soit par l'espèce de plante hôte, soit par l'éloignement spatial des plantes. L'impact de la phénologie des plantes sur les populations de parasitoïdes n'ayant, à notre connaissance, pas été abordé.

La famille des Brassicacées est composée de plantes cultivées et de plantes sauvages qui diffèrent principalement par leur phénologie et par les défenses physiques (les trichomes) et chimiques (concentration et identité des glucosinolates). Ces variations dans les caractéristiques des plantes peuvent influencer le développement et le comportement des phytophages et des ennemis naturels (Gols and Harvey, 2009; Hopkins et al., 2009). Toutefois, il ne semble pas exister, à notre connaissance, d'études portant sur la structuration génétique des populations de phytophages et de parasitoïdes sur différentes espèces de Brassicacées. D'autre part, les pucerons constituent un très bon modèle pour étudier la structuration génétique des populations de phytophages en relation avec la plante hôte. En effet, ces derniers alternent la reproduction asexuée (parthénogénétique) qui permet d'amplifier la réponse de la sélection et la reproduction sexuée qui permet de générer de la diversité génétique. De plus, plusieurs études ont montré la présence de sélection de races d'hôtes chez les pucerons (Lushai et al., 1997; Peccoud et al., 2009; Via, 1991a; Via, 1991b; Via, 1999). Enfin, étant donné que les parasitoïdes sont attirés par les plantes hôtes et pondent dans un seul hôte qui continue à se nourrir sur la plante, leurs populations devraient être affectées par les caractéristiques des plantes.

Une éventuelle structuration des populations de phytophages *Brevicoryne brassicae* et du parasitoïde *Diaeretiella rapae* a été recherchée en fonction de différentes espèces de plantes hôtes. Cette espèce de puceron est attirée par les composés secondaires spécifiques des Brassicacées (Nault and Styer, 1972; Nottingham et al., 1991; Pettersson, 1973; Pettersson, 1979; Pickett et al., 1992), tout comme son parasitoïde *D. rapae* (Blande et al., 2007; Bradburne and Mithen, 2000; Pope et al., 2008; Read et al., 1970; Reed et al., 1995; Titayavan and Altieri, 1990; Vaughn et al., 1996). Les études précédentes (Figuerola et al., 2004; Jourdie et al., 2010; Stireman et al., 2006; Toneatto et al., 2010) nous laissent supposer

que les caractéristiques des plantes peuvent structurer les populations de phytophages et de parasitoïdes en lien avec leurs préférences pour les plantes possédant certains composés secondaires.

6.2. Matériel et Méthodes

6.2.1. Description des plantes hôtes, des dates et des sites d'échantillonnage

Afin de déterminer si les plantes peuvent engendrer une structuration des populations de phytophages et de parasitoïdes, nous avons choisi trois espèces de Brassicacées sauvages *Brassica nigra*, *Raphanus raphanistrum* et *Sinapis arvensis* et deux espèces cultivées *B. napus* et *B. oleracea*. Ces plantes hôtes ont été choisies parmi les espèces communes, connues pour héberger le puceron cendré du chou *B. brassicae* qui est un phytophage spécialiste de la famille des Brassicacées. Ces espèces varient au niveau des défenses physiques et chimiques, mais également au niveau de leur phénologie. Le colza *B. napus* est une espèce cultivée d'octobre à juin, et serait donc absente une partie de l'année. Les espèces de pucerons et de parasitoïdes exploitant cette espèce sont donc obligées de coloniser une autre espèce. Les trois autres espèces de plantes sont disponibles toute l'année.

Les échantillonnages ont été réalisés sur cinq espèces de Brassicacées, sur trois périodes allant du 19 au 28 mai 2008, du 3 au 21 juillet 2008 et du 1 au 13 octobre 2008, afin de tester une éventuelle structuration des populations en fonction de la phénologie des plantes hôtes, et sur trois sites qui varient dans la disponibilité en plantes hôtes afin de tester une éventuelle structuration spatiale. Le site de « Bouchemaine » est très riche en plantes hôtes. A l'inverse le site de « Corné » est majoritairement planté de cultures en plantes non hôtes telles que le maïs et le blé. Le site de « Bécon les granits » présente un niveau intermédiaire en termes de présence des plantes hôtes puisqu'il est plus forestier (Figure 1).

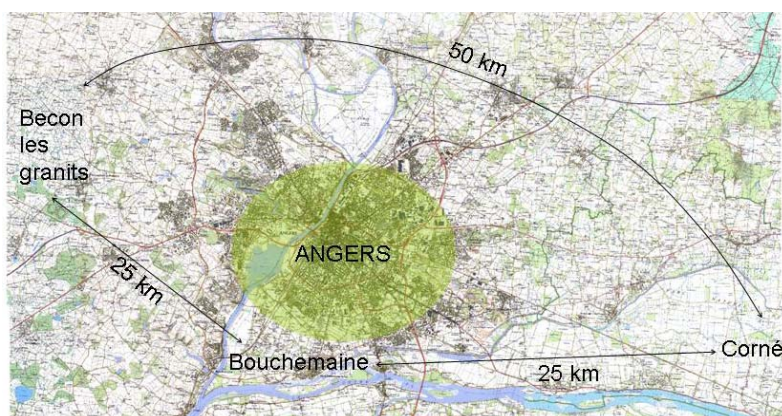


Figure 1: Carte des environs d'Angers représentant la distance entre les trois sites d'échantillonnage qui varient dans leur disponibilité en plantes hôtes.

6.2.2. Protocole d'échantillonnage

Les analyses génétiques ont été effectuées en 2009 sur un total de 479 *B. brassicae* collectés sur cinq espèces de plantes, à trois dates dans trois sites près d'Angers (France), et nous avons essayé autant que possible d'équilibrer l'effort d'échantillonnage entre les espèces de plantes, les dates et les sites (Tableau 1), afin de pouvoir tester statistiquement chaque type de structuration.

Tableau 1: Répartition des 479 pucerons génotypés selon les cinq espèces de plantes, les trois dates et les trois sites.

date	sites	5 espèces de plantes					Total
		<i>B. napus</i>	<i>B. nigra</i>	<i>B. oleracea</i>	<i>R. raphanistrum</i>	<i>S. arvensis</i>	
mai	Becon	20				2	22
	Bouchemaine	8	6	1	12	10	37
	Corné	1			11	5	16
Total mai		29	6	1	23	17	75
juillet	Becon	1		6	13	13	33
	Bouchemaine		24	16	6	13	59
	Corné	10	17	9		21	57
Total juillet		11	41	31	19	47	149
octobre	Becon	29		21	8	15	73
	Bouchemaine	13		22	19	22	76
	Corné	31		28	28	19	106
Total octobre		73		71	55	56	255
Total		112	47	103	97	120	479

6.2.3. Collecte des pucerons

Afin de minimiser le risque d'échantillonner plusieurs membres d'un même clone et d'éviter les migrants transitoires dans nos échantillonnages, un seul puceron aptère a été prélevé par plante hôte. De plus, sur chaque parcelle, les prélèvements ont été distants d'au moins un mètre et n'ont pas dépassé 8 individus. Chaque puceron a été placé dans un tube de 1,5 ml contenant de l'éthanol à 95%.

6.2.4. Emergence des parasitoïdes

Lors des échantillonnages de pucerons, un puceron aptère a été placé dans un tube pour les analyses génétiques de pucerons. Le reste de la colonie a été placé avec une feuille de la plante hôte dans une boîte hermétique afin de recueillir les parasitoïdes émergeant de cette colonie de pucerons. Une seule colonie a été placée par boîte et le parasitoïde émergent a été supposé appartenir au même clone que le puceron génotypé. En procédant de cette manière, les génotypes de puceron sont liés aux plantes hôtes et les génotypes de parasitoïde sont liés aux plantes hôtes et aux génotypes des pucerons. Pour les analyses génétiques des parasitoïdes, nous avons choisi deux espèces de plantes cultivées *B. napus* et *B. oleracea* et

deux des trois espèces sauvages *B.nigra* et *S. arvensis*. Au total, 725 femelles parasitoïdes ont émergé des 479 colonies de pucerons prélevées et 175 ont été sélectionnées pour les analyses génétiques (effectuées en 2010), sur la base de l'espèce de plante, le site, la date et le génotype du puceron (Tableau 2). La taille de ces 175 parasitoïdes a été préalablement estimée en mesurant la taille du tibia des individus grâce à une lentille de grossissement 5-X et au programme Metaview ©.

Tableau 2: Répartition des 175 parasitoïdes génotypés selon les cinq espèces de plantes, les trois dates et les trois sites.

date	site	espèces de plantes				Total
		<i>B. napus</i>	<i>B. nigra</i>	<i>B.oleracea</i>	<i>S. arvensis</i>	
mai	Becon	18				18
	Bouchemaine	14			10	24
	Corné	8			6	14
Total mai		40			16	56
juillet	Becon			1	3	4
	Bouchemaine		16	8	26	50
	Corné		2			2
Total juillet			18	9	29	56
octobre	Becon	5		2		7
	Bouchemaine	6		21	3	30
	Corné	15		4	7	26
Total octobre		26		27	10	63
Total		66	18	36	55	175

6.2.5. Analyses génotypiques de populations de pucerons à l'aide de marqueurs microsatellites.

6.2.5.1. Extraction d'ADN

Pour chaque puceron, l'ADN a été extrait en utilisant la méthode de « salting out » (Miller et al., 1988; Sunnucks and Hales, 1996). L'ADN a ensuite été précipité dans de l'éthanol et resuspendu dans 20 µl d'eau ultra pure.

6.2.5.2. Choix des marqueurs microsatellites

Chaque individu de *B. brassicae* a été génotypé à l'aide de cinq marqueurs microsatellites. Ces marqueurs étant neutres, ils ne sont pas soumis à la sélection et présentent donc un fort polymorphisme permettant de distinguer les individus. Les marqueurs Bb68, Bb37 et Bb9a ont été isolés à partir de *B. brassicae* (Miller et al., non publié) tandis que Sm11 et S17b ont été isolés à partir de *Sitobion miscanthi* (Wilson et al., 2004).

6.2.5.3. Génotypage sur cinq loci

L'amplification par PCR a été réalisée dans un volume total de 8 µl contenant 12 ng d'ADN, 1X de tampon PCR, 3.2 mM de $MgCl_2$, 0.42 mM de dNTP, 0.2 µM de chaque amorce Reverse et Forward et 0.25 unité de Taq polymérase. Les amplifications ont été réalisées sur thermocycleur Biorad C1000 (MJ Research, Inc.) avec le programme suivant : 5 min à 94°C (dénaturation), [30 sec à 94°C (dénaturation), 30 sec à la température d'hybridation (appariement) (T_h = 56°C pour Bb9a, Bb37, Sm11 et S17b et T_h = 60°C pour Bb68), 45 sec à 72°C (élongation)] x 35 cycles, 7 min à 72°C (extension finale).

6.2.5.4. Analyses génétiques

Pour chaque échantillon, les produits d'amplifications ont été déposés sur un séquenceur automatique à gel type LI-COR. Le gel utilisé est un gel polyacrylamide dénaturant à 7,5% (19:1 acrylamide : bisacrylamide). La taille des allèles de chaque locus a été estimée en comparaison avec un marqueur de taille par le logiciel SAGA.

6.2.6. Analyses génotypiques de populations de parasitoïdes à l'aide de marqueurs microsatellites.

6.2.6.1. Extraction d'ADN

L'ADN a été extrait en utilisant la méthode de « salting out » (Miller et al., 1988; Sunnucks and Hales, 1996).

6.2.6.2. Choix des marqueurs microsatellites

Chaque individu de *D. rapae* a été génotypé à l'aide de quatre loci microsatellites, Dr 236, Dr 268, Dr 271 et Dr 283 isolés à partir de *D. rapae* (Macdonald et al., 2003).

6.2.6.3. Génotypage sur quatre loci

L'amplification par PCR a été réalisée dans un volume total de 10 µl contenant 12 ng d'ADN, 1X de tampon PCR, 2 mM de $MgCl_2$, 0.2 mM de chaque dNTP, 0.4 µM de chaque amorce Reverse et Forward, 0.36 µM d'amorces fluo m13 et 0.25 unité de Taq polymérase. Les amplifications ont été réalisées sur un thermocycleur Biorad C1000 (MJ Research, Inc.) avec le programme suivant : 5 min à 94°C (dénaturation), [20 sec à 94°C (dénaturation), 20 sec à la température d'hybridation (appariement) (T_h = 64°C pour Dr 236, Dr 268 et Dr 271 et T_h = 52°C pour Dr 283), 30 sec à 72°C (élongation)] x 20 cycles + [20 sec à 94°C (dénaturation),

20 sec à 53°C (appariement), 30 sec à 72°C (élongation)] x 20 cycles , 10 min à 72°C (extension finale).

6.2.6.4. Analyses génétiques

Pour chaque échantillon, les produits de PCR ont été analysés sur un séquenceur automatique comprenant 16 capillaires. Les résultats ont été analysés grâce au logiciel GeneMapper.

6.2.7. *Analyses statistiques des données de structuration des phytophages*

Afin d'assigner les individus à des populations sans *a priori*, le logiciel Structure 2.2 a été utilisé en supposant un mélange génétique (« admixture model ») et des fréquences alléliques corrélées entre elles. Cette méthode permet de démontrer une éventuelle structuration des populations, d'identifier des populations génétiquement distinctes, et d'assigner des individus à des populations. Pour cela, nous avons fait varier le paramètre k (c'est-à-dire le nombre de populations présumées) de 2 à 26 (nombre maximum de populations obtenues ayant plus de huit individus sur les 45 possibles). Vingt simulations ont été réalisées pour chaque valeur de k avec les méthodes de Monte-Carlo par chaînes de Markov (MCMC). Afin de déterminer si les populations sont structurées en fonction des espèces de plantes hôtes, du site ou de la phénologie des plantes, la distribution des génotypes les plus communs a été analysée avec un modèle linéaire généralisée (GLM) sous R (R-Development-Core-Team, 2008) selon une erreur binomiale et une fonction de lien logit. De plus, le logiciel Genetix 4.05.02 a été utilisé pour représenter graphiquement grâce à une analyse factorielle des correspondances (AFC) la distribution des populations, et pour estimer et tester les indices de Wright (F_{ST} , F_{IT} et F_{IS}) et plus particulièrement le F_{ST} global ainsi que les F_{ST} en comparaison deux à deux.

6.2.8. *Analyses statistiques des données de structuration des parasitoïdes*

Afin de déterminer si les populations sont structurées en fonction des plantes hôtes, du site ou de la date d'échantillonnage, des tests sous Genetix (AFC, F_{ST} global, F_{ST} en comparaison deux à deux) ont été réalisées et Structure (assignement des individus pour $k = 4$ espèces de plantes).

6.3. Résultats

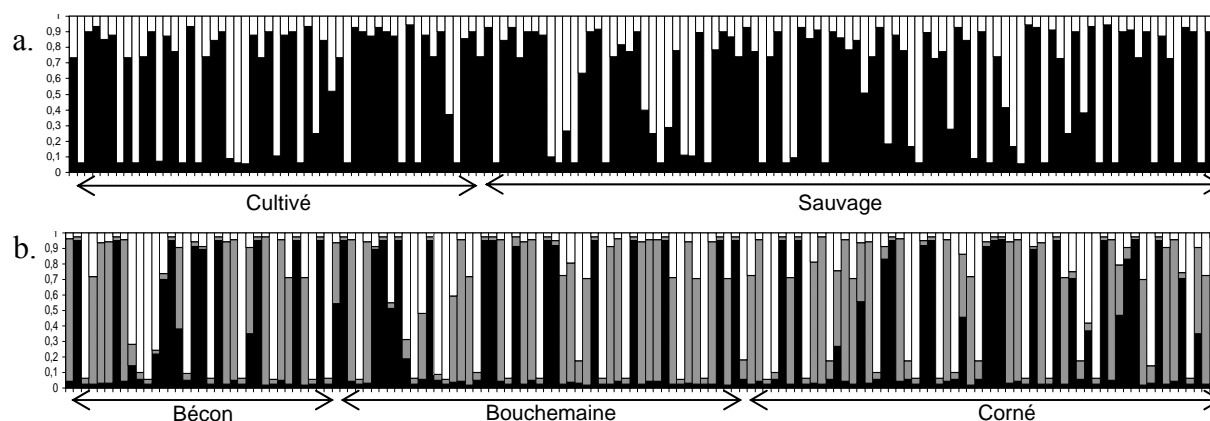
6.3.1. *Existe-t-il une structuration génétique des populations du puceron B. brassicae?*

Les analyses génétiques de pucerons ont été effectuées sur quatre loci, le locus Bb68 étant presque entièrement monomorphe. Le locus Bb9a est constitué de quatre tailles d'allèles différentes, Sm11 de deux, Bb37 de trois, S17b de sept et Bb68 de deux. Ces analyses révèlent la présence de quatre génotypes multi-locus communs aux cinq espèces de plantes (GML 1, 5, 6 et 12) (Tableau 3). La variabilité génétique de ce puceron est faible puisque seuls 37 génotypes multi-locus différents dont 16 génotypes uniques sont obtenus. De plus, 18 génotypes se retrouvent uniquement sur des plantes sauvages tandis que 4 génotypes ne se retrouvent que sur plantes cultivées. Les génotypes rares sont donc plus fréquents sur les plantes sauvages. Finalement, seuls quatre génotypes semblent spécialistes d'une espèce de plante hôte (GML 9, 13, 17 et 20).

Tableau 3: répartition des 37 génotypes multi-locus (GML) de pucerons selon les cinq espèces de plantes.

espèces de plantes	Génotypes Multi Locus de <i>B. brassicae</i>																					unique	Total
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21		
<i>B. napus</i>	6	6			66	18		2			1	9		1		1					1	1	112
<i>B. nigra</i>	7	1	1	1	18	5	1	2				5						1	1			4	47
<i>B. oleracea</i>	9	11	1	1	39	24				1		8	1		2			3		2		1	103
<i>R. raphanistrum</i>	7	3			43	20	1	2	3		2	8			1	1		1	1		1	3	97
<i>S. arvensis</i>	8		1	2	52	30		4		2	1	5		1	2	1	2	2				7	120
Total	37	21	3	4	218	97	2	10	3	3	4	35	1	2	5	3	2	7	2	2	2	16	479

Le logiciel Structure assigne sans *a priori* chaque individu de la population à un groupe, le nombre de groupe total k étant défini au préalable. Les graphiques obtenus grâce au logiciel Structure effectués sur les 26 populations de phytophages après correction de la réplication des clones (c'est-à-dire en enlevant les clones multiples au sein d'une même population), ne présentent pas de regroupement des individus par espèce de plantes, par date ou par site. En effet, ils ne montrent pas de structuration en fonction du caractère cultivé ou sauvage des plantes ($k=2$), du site ($k=3$), de la date ($k=3$) ou des espèces de plantes ($k=5$) (Figure 2).



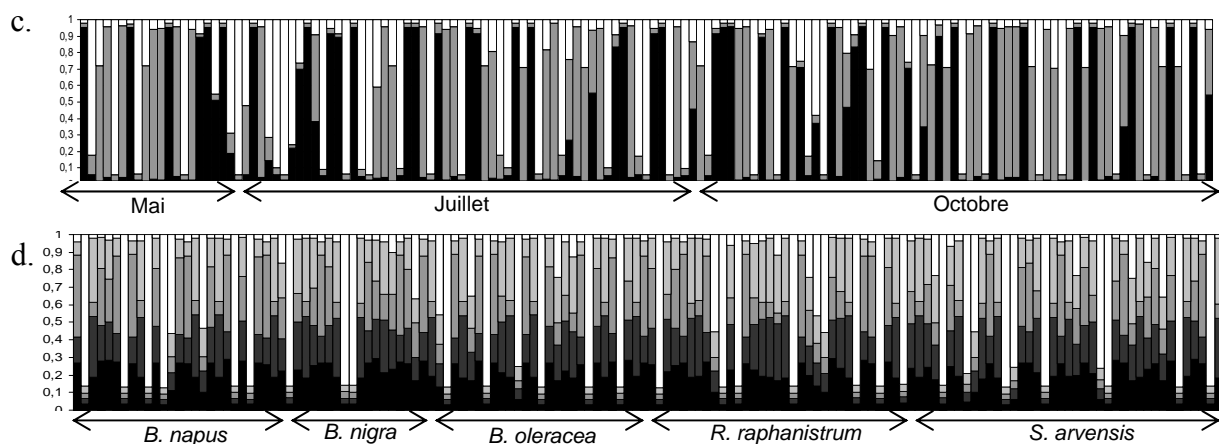


Figure 2: Représentation graphique de l'assignement des populations par Structure pour a. $k=2$ (cultivé et non cultivé); b. $k=3$ (site); c. $k=3$ (date) et d. $k=5$ (espèces de plantes).

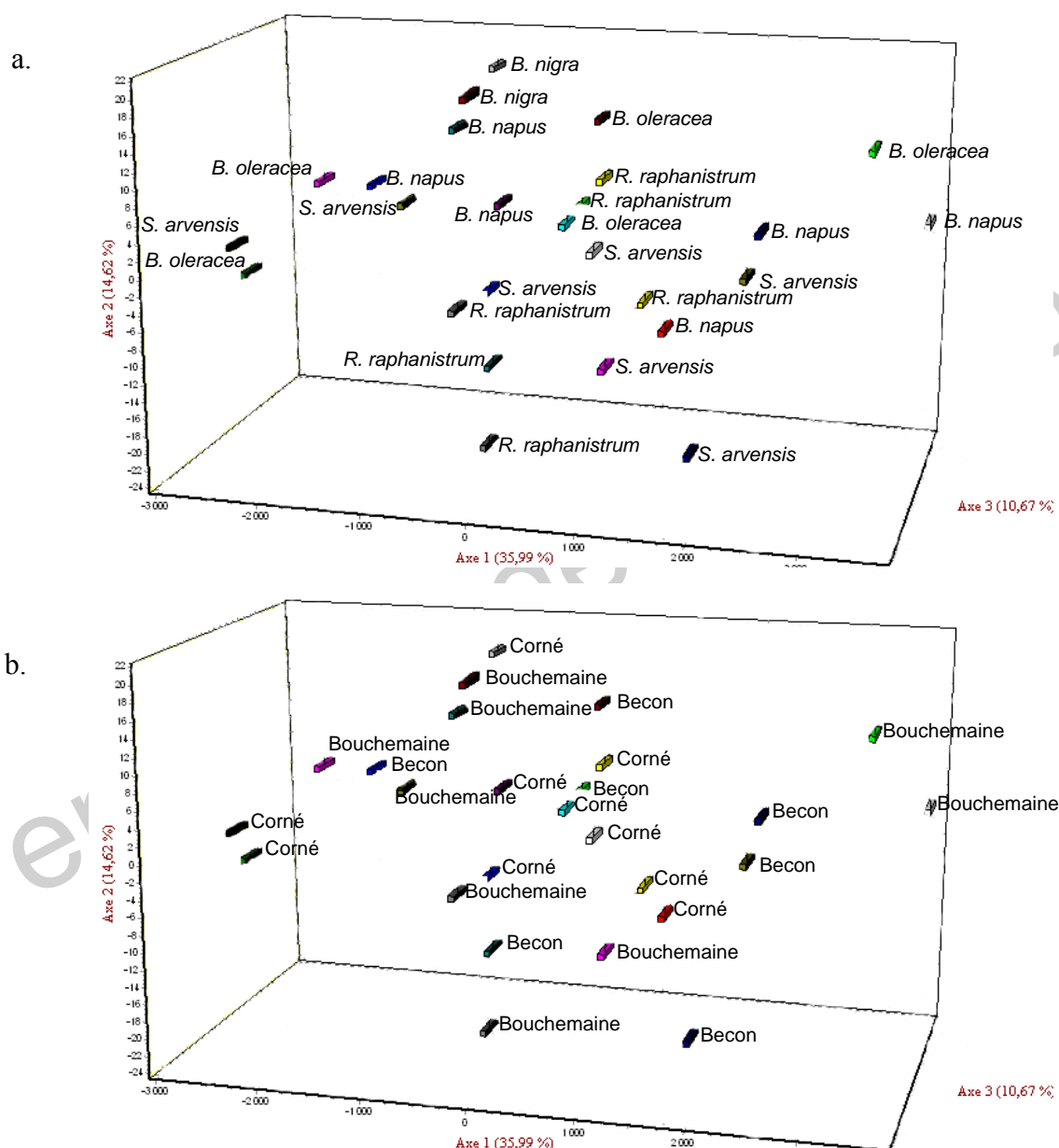
Les analyses statistiques obtenues grâce au modèle linéaire généralisé sur les cinq génotypes les plus communs montrent que les GML 1, 5 et 6 se répartissent de manière équivalente selon les espèces de plantes hôtes, la date et le site d'échantillonnage (Tableau 4). Néanmoins les GML 12 et uniques sont plus présents en mai qu'en octobre, ce qui semblerait indiquer une structuration temporelle de ces génotypes multi-locus. Le GML 2 est plus présent sur *B. oleracea* que *R. raphanistrum*, et les GML uniques sont plus nombreux sur *B. nigra* que sur les plantes cultivées *B. napus* et *B. oleracea*. Ceci semble confirmer l'hypothèse de la présence plus importante de génotypes rares sur les plantes sauvages.

Tableau 4: Distribution des génotypes multi-locus selon les espèces de plantes, la date ou le site

	Espèces (df = 4)	Dates (df = 2)	Sites (df = 2)
GML 1	$\chi^2 = 4.64, p = 0.221$	$\chi^2 = 3.83, p = 0.094$	$\chi^2 = 0.04, p = 0.972$
GML 5	$\chi^2 = 7.95, p = 0.09$	$\chi^2 = 2.26, p = 0.32$	$\chi^2 = 4.26, p = 0.12$
GML 6	$\chi^2 = 7.41, p = 0.12$	$\chi^2 = 3.52, p = 0.17$	$\chi^2 = 3.31, p = 0.19$
GML 12	$\chi^2 = 2.79, p = 0.60$	$\chi^2 = 7.84, p < \mathbf{0.001}$ mai > octobre ($p < 0.01$)	$\chi^2 = 1.95, p = 0.152$
GML 2	$\chi^2 = 17.73, p < \mathbf{0.001}$ <i>B. oleracea</i> > <i>R. raphanistrum</i> ($p < 0.05$)	$\chi^2 = 2.07, p = 0.07$	$\chi^2 = 1.03, p = 0.358$
GML unique	$\chi^2 = 5.76, p < \mathbf{0.01}$ <i>B. nigra</i> > <i>B. napus</i> ($p < 0.05$) <i>B. nigra</i> > <i>B. oleracea</i> ($p < 0.05$)	$\chi^2 = 9.86, p < \mathbf{0.001}$ mai > octobre ($p < 0.01$)	$\chi^2 = 0.30, p = 0.708$

Le logiciel Genetix permet de faire une représentation graphique (AFC) des 26 populations de pucerons possédant plus de 8 individus par population. Cette AFC ne montre aucun regroupement des populations par espèce de plante (Figure 3a), par site (Figure 3b) ou par date (Figure 3c). De plus, les indices de Wright ne mettent pas en évidence de structuration des populations de pucerons car le F_{ST} est faible (F_{ST} indice de fixation = 0.019 ($p < 0.001$); F_{IS} coefficient de consanguinité = -0.288, F_{IT} coefficient global de consanguinité = -0.264),

et Genetix estime des F_{ST} faibles que ce soit par espèce de plantes (0.010, $p < 0.001$), par site (0.011, $p < 0.001$) ou par date (0.010, $p < 0.001$). Les comparaisons deux à deux des F_{ST} des génotypes multi-locus des populations obtenus par date, par site ou par espèce donnent toutes des F_{ST} égaux à zéro (absence de structuration) et non significatifs. Les comparaisons deux à deux de chaque F_{ST} obtenus sur les 26 populations de pucerons semblent indiquer une structuration faible. Néanmoins toutes les comparaisons sont non significatives.



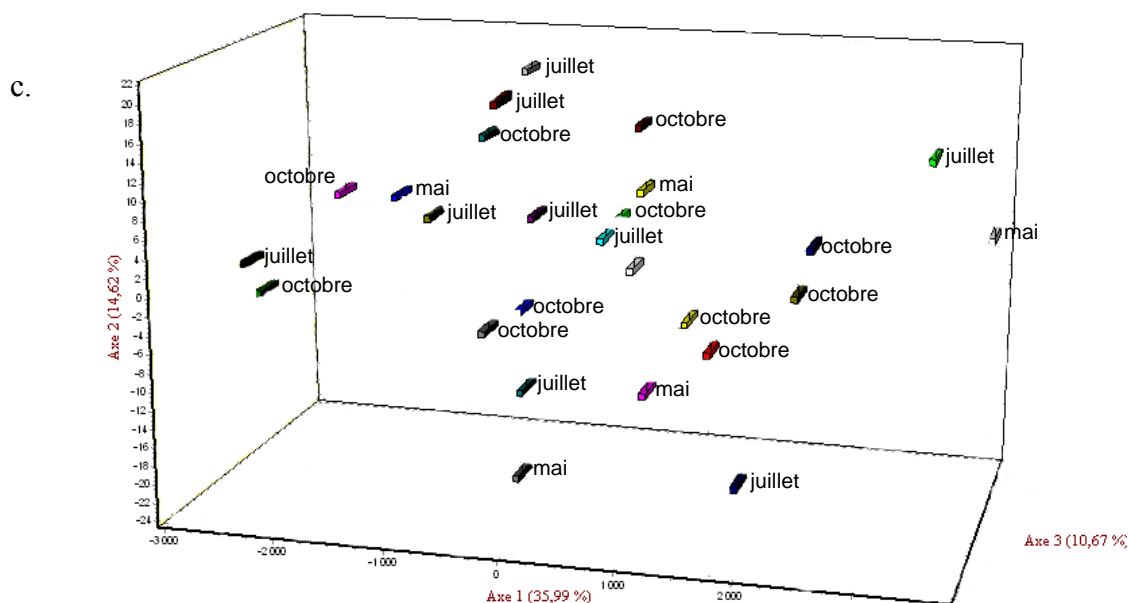


Figure 3: Représentation graphique par analyse factorielle des correspondances de la distribution des génotypes multi-locus des 26 populations de pucerons récoltées sur une espèce, à un site, et à une date. Sur la Figure a., les espèces de plantes sont indiquées sur les populations, sur la Figure b., les sites et sur la Figure c., les dates. Les populations ne sont pas structurées par les plantes hôtes, ni par le site, ni par la date d'échantillonnage puisque l'AFC ne forme pas de regroupement entre populations.

6.3.2. Existe-t-il une structuration génétique des populations du parasitoïde *D. rapae*?

Les analyses génétiques de parasitoïdes ont été effectuées sur trois loci, le locus Dr 236 étant complètement monomorphe. Bien que le nombre de loci puisse paraître faible au vu des études qui sont publiées actuellement, j'ai tout de même réalisé des analyses pour tester la structuration des populations. Le locus Dr68 est constitué de 27 tailles d'allèles différentes, Dr271 de 25 et Dr 283 de 23.

Sur les 175 individus génotypés, 148 présentent un génotype unique résultant de la reproduction sexuée des parasitoïdes. L'AFC ne montre aucun regroupement des 17 populations de parasitoïdes par espèce de plante, par site ou par date (Figure 4).

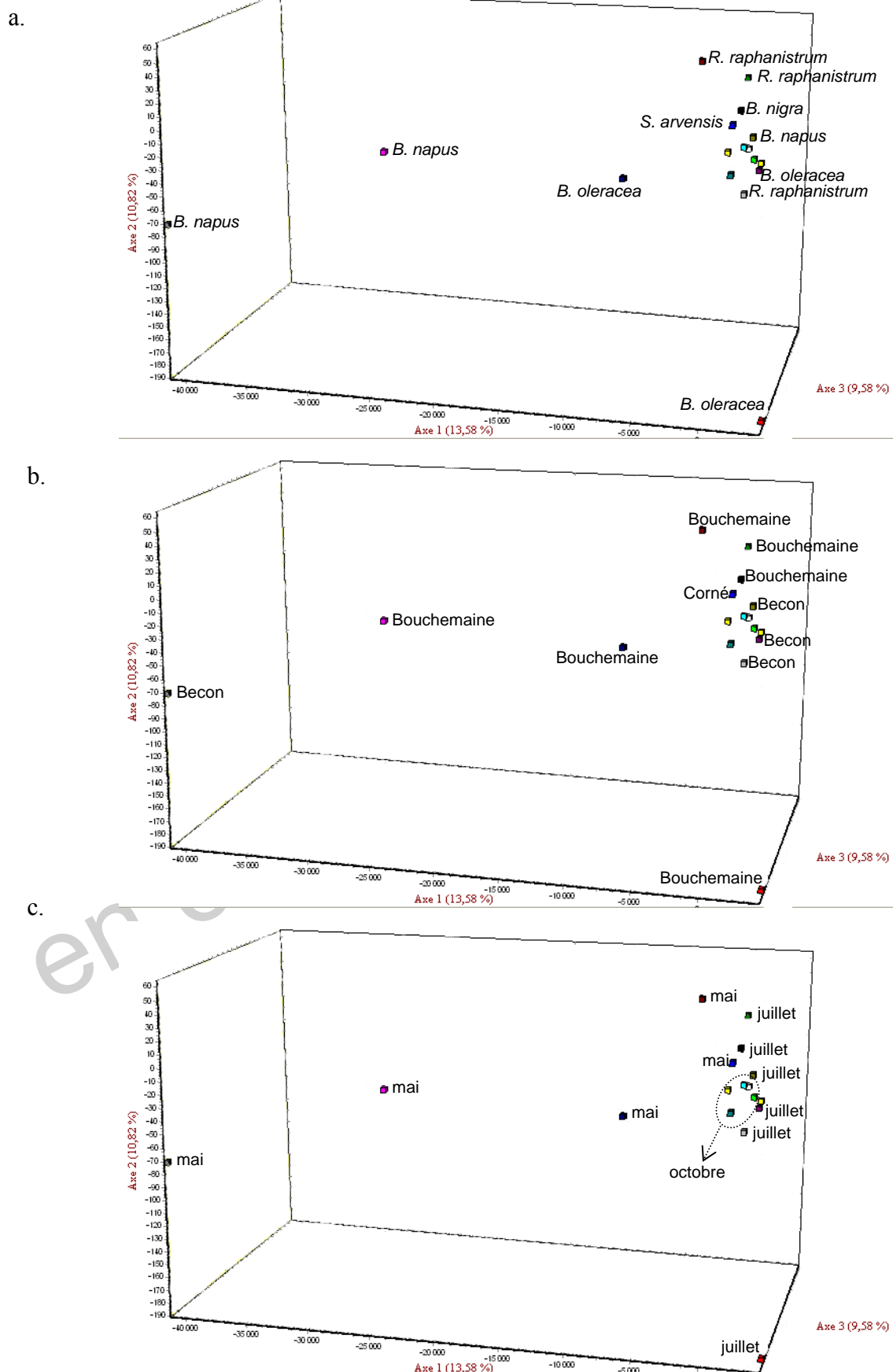


Figure 4: Représentation graphique de la distribution des 17 populations de parasitoïdes récoltés sur une espèce de plante, à un site et à une date. Sur la Figure a., j'ai indiqué les noms de quelques espèces de plantes sur les

populations, sur la Figure b., les sites et sur la Figure c., les dates (les populations d'octobre sont toutes groupées au centre). La distribution des populations n'est structurée ni par les espèces de plantes hôtes, ni par le site, ni par la date d'échantillonnage puisque l'AFC ne forme par de regroupement entre populations.

Les résultats du logiciel Structure sur les 17 populations de parasitoïdes ne montrent pas de structuration par espèce de plantes hôtes ($k=4$) (Figure 5). D'un point de vue subjectif, il semblerait tout de même que les génotypes « gris foncé » se trouvent majoritairement sur *S. arvensis* par rapport aux autres espèces de plantes *B. napus*, *B. nigra* et *B. oleracea*.

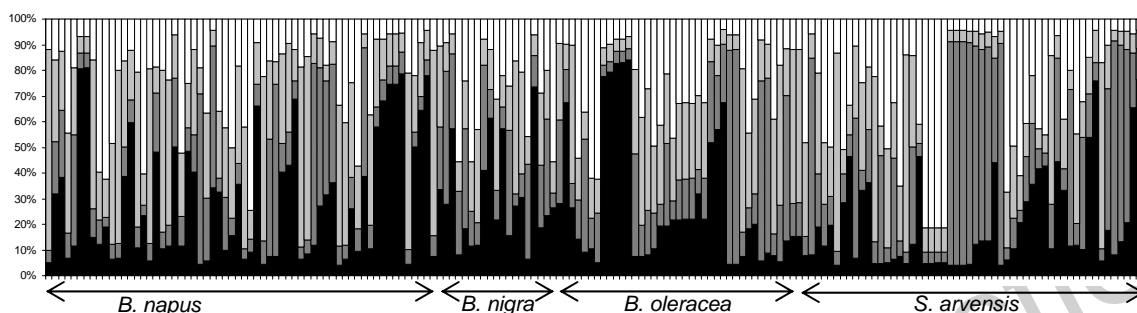


Figure 5: représentation graphique de l'assignement des populations par Structure pour $k = 4$ espèces de plantes.

Les populations présentent un F_{ST} global de 0.049 ($p < 0.001$), ce qui indique une structuration génétique faible des populations, et des indices de consanguinité importants ($F_{IS} = 0.135$, $F_{IT} = 0.178$). De plus, les comparaisons deux à deux des F_{ST} des génotypes multi-locus des populations révèlent une structuration par espèce de plante, spatiale et temporelle faible mais significative (Tableau 5). Ces comparaisons montrent que les populations trouvées sur *S. arvensis* sont génétiquement différentes de celles trouvées sur *B. napus* et *B. oleracea*, que les populations trouvées à Bécon-les-granits sont génétiquement différentes de celles trouvées à Bouchemaine et Corné, et que les populations de parasitoïdes collectées aux trois périodes d'échantillonnage sont toutes génétiquement différentes. De plus, les comparaisons deux à deux des F_{ST} obtenus par population montrent que certaines populations se distinguent des autres (Tableau 6). Par exemple, la population (Bb31) collectée en octobre, à Bécon sur *B. oleracea* diffère d'une autre population (Bb11) collectée en juillet, à Bécon sur *B. oleracea* ($F_{ST} = 0.53$, $p < 0.001$).

Tableau 5: Comparaisons deux à deux des F_{ST} obtenus par date, par site ou par espèce de plante accompagnées de la significativité ($p < 0.05$ *, $p < 0.01$ **, $p < 0.001$ ***)

	juillet	octobre
mai	0.01729 ***	0.00982 *
juillet		0.01235 **

	Bouchemaine	Corné
Becon	0.01122 *	0.01608 *
Bouchemaine		0.00451

	<i>B. nigra</i>	<i>B. oleracea</i>	<i>S. arvensis</i>
<i>B. napus</i>	0	0.00738	0.01469 ***
<i>B. nigra</i>		0.00753	0.01136
<i>B. oleracea</i>			0.00922 *

en cours de rédaction

Tableau 6: Comparaisons deux à deux des F_{ST} obtenus par population de *Diaeretiella rapae* accompagnée de la significativité ($p < 0.05$ *, $p < 0.01$ **, $p < 0.001$ ***) (BO = *Brassica oleracea* ; SA = *Sinapis arvensis* ; BNI = *Brassica nigra* ; BNA = *Brassica napus*)

			Date	juillet	juillet	juillet	juillet	juillet	octobre	octobre	octobre	octobre	octobre	octobre	octobre	octobre	mai	mai	mai	
			Site	Bécon	Bécon	Bouche-	Bouche-	Bouche-	Corné	Corné	Corné	Bouche-	Bouche-	Bouche-	Bécon	Bécon	Bécon	Bouche-	Bouche-	
			Espèces	BO	SA	BNI	BO	SA	BNI	BNA	BO	SA	SA	BO	BNA	BNA	BO	BNA	SA	
Date	Site	Espèces		Bb11	Bb13	Bb14	Bb15	Bb17	Bb19	Bb22	Bb23	Bb25	Bb26	Bb28	Bb29	Bb30	Bb31	Bb4	Bb5	Bb9
juillet	Becon	BO	Bb11	-	0	0.07649	0.06306	0.08213	0	0.09210 *	0.13089 ***	0.28910 ***	0.12121 ***	0.13191	0.12936	0.12500 ***	0.52941 ***	0.09024	0.14579	0.03833
juillet	Becon	SA	Bb13		-	0.04968	0.13135	0.06020	0	0.09729 *	0.06155	0.14898 *	0.05263	0.09919 *	0.13333 *	0	0.03962	0.07983 *	0.11910 *	0.06204
						0.05053														
juillet	Bouche-	BNI	Bb14			-	*	0.03855 *	0	0	0.06934	0.07137 *	0	0.01643	0.06147 *	0.05119 *	0.02811	0	0.02133	0.01551
juillet	Bouche-	BO	Bb15				-	0.07491 *	0.01566	0.04589 *	0.19261 *	0.15886 **	0.02703	0.07827 **	0.15073 **	0.11692 *	0.18609 *	0.07582 ***	0.07368 **	0.09368 **
juillet	Bouche-	SA	Bb17					-	0.00018	0.05121 ***	0.06972	0.13903 ***	0.02280	0.03968 **	0.15702 ***	0.04396	0.08242	0.04178 **	0.03898 **	0.03533 *
juillet	Corné	BNI	Bb19						-	0	0.07386	0.10938	0	0	0	0.05716	0.05263 ***	0	0	0
octobre	Corné	BNA	Bb22							-	0.11872 **	0.10954 **	0	0.02107	0.08404 **	0.07821 **	0.04830	0.01041	0.01587	0.03325 *
octobre	Corné	BO	Bb23								-	0.12731 *	0.07387	0.08599 *	0.12515 *	0.06634	0.10258	0.06885	0.08058	0.02463
octobre	Corné	SA	Bb25									-	0.10724	0.13103 ***	0.10938 *	0.12114 *	0.22613 ***	0.12934 ***	0.14911 ***	0.12024 **
octobre	Bouche-	SA	Bb26										-	0.00352	0.06471	0.05493	0.08554	0	0	0
octobre	Bouche-	BO	Bb28											-	0.12328 **	0.09372 **	0.07431	0.01728 *	0.01297	0.01962
octobre	Bouche-	BNA	Bb29												-	0.17143 **	0.13856	0.08836 **	0.15291 **	0.07441 *
octobre	Becon	BNA	Bb30													-	0.05793	0.06934 *	0.07999 *	0.07380 *
octobre	Becon	BO	Bb31														-	0.01232	0.05680	0.04709
mai	Becon	BNA	Bb4															-	0.00664	0.01028
mai	Bouche-	BNA	Bb5																-	0.01987

6.4. Discussion

Nos résultats ne mettent pas en évidence de structuration des populations du puceron spécialiste *B. brassicae* en fonction des espèces de plantes hôtes, du site ou de la date d'échantillonnage. La différenciation génétique chez les pucerons en fonction des plantes hôtes est pourtant un phénomène courant et observé chez de nombreuses espèces comme *Acyrtosiphon pisum* (Frantz et al., 2006; Peccoud et al., 2009; Sandstrom, 1994; Via, 1999; Via et al., 2000), *Aphis gossypii* (Brévault et al., 2008; Charaabi et al., 2008; Vanlerberghe-Masutti and Chavigny, 1998), et *Sitobion avenae* (Figueroa et al., 2005; Haack et al., 2000; Vialatte et al., 2005). Néanmoins, ce type de structuration ne semble pas exister chez *B. brassicae* comme notre étude et celle de Miller et al. (non publié) le montrent. L'absence de structuration est sans doute liée au caractère monoécique anholocyclique de ce puceron, qui n'est pas un facteur favorable à la différenciation génétique (Vanlerberghe-Masutti and Chavigny, 1998). De plus, nos populations de *B. brassicae* sont très peu polymorphes en comparaison aux autres espèces des pucerons telles que *Sitobion avenae* (37 génotypes multi-locus vs. 124 (Simon et al., 1999)). Cette absence de structuration et cette faible diversité des génotypes pourraient être dues à une adaptation de la part de tous les génotypes à exploiter toutes les espèces de plantes hôtes. En effet, la sélection naturelle est supposée favoriser les génotypes les plus vigoureux et éliminer la variation génétique. Ainsi, même si *B. brassicae* est préférentiellement attiré par certaines espèces de plantes (Nault and Styer, 1972; Nottingham et al., 1991; Pettersson, 1973; Pettersson, 1979; Pickett et al., 1992), l'adaptation de la plupart des génotypes de *B. brassicae* à exploiter toutes les Brassicacées, a entraîné des performances équivalentes sur *B. nigra*, *B. napus* et *S. arvensis* (Le Guigo et al., in press) et une absence de structuration des populations.

Les composés de défenses des plantes pourraient expliquer l'adaptation de la plupart des génotypes de *B. brassicae*. En effet, la distribution des génotypes multi-locus de *B. brassicae* indique que les génotypes rares de *B. brassicae* sont plus présents sur les plantes possédant beaucoup de défenses comme l'avait prédit Figueroa et al. (2004). Concernant les phytophages généralistes, les composés de défenses des plantes ont, au contraire, structuré les populations. En effet, certains clones de *Myzus persicae* se retrouvent exclusivement sur Brassicacées et se différencient génétiquement de ceux retrouvés sur Solanacées (Kasprowicz et al., 2008; Zitoudi et al., 2001).

Contrairement aux résultats obtenus par Ruiz-Montoya et al. (2003) sur *B. brassicae*, nous n'obtenons pas de structuration spatio-temporelle des populations de pucerons. Plusieurs

études portant sur d'autres espèces de pucerons ont également montré une absence de structuration spatiale des populations chez *Aphis gossypii* et *Myzus persicae* (Charaabi et al., 2008; Zitoudi et al., 2001) et temporelle chez *Myzus persicae* (Margaritopoulos et al., 2007). L'absence de structuration spatio-temporelle pourrait être due à l'instabilité de l'habitat. En effet, les agroécosystèmes au sein desquels ont eu lieu nos échantillonnages, se caractérisent par une importante hétérogénéité environnementale dans le temps et l'espace. Les plantes de nos expérimentations étant toutes annuelles, et les cultures telles que *B. napus* et *B. oleracea* étant régulièrement récoltées, cela oblige les populations de pucerons à être très mobiles. Ces événements de dispersion et d'alternance de plantes hôtes peuvent promouvoir le mélange des populations et empêcher la divergence génétique en favorisant les flux de gènes.

Malgré l'absence de structuration des populations de phytophages, les populations de parasitoïdes *D. rapae* semblent se structurer en fonction des espèces de plantes, de la date et du site d'échantillonnage. Toutefois, ces résultats restent à confirmer par l'ajout de marqueurs microsatellites étant donné que nous ne disposons actuellement que de trois loci pour mesurer la structuration génétique des populations de *D. rapae*. L'analyse récente du génome complet de *D. rapae* ayant permis de découvrir de nouveaux loci, d'autres analyses génétiques (que celles effectuées en 2010) sont envisagées pour compléter les analyses actuelles.

La taille accrue de *D. rapae* sur les plantes sauvages telles que *S. arvensis* (Le Guigo et al., in press) pourrait expliquer la mise en évidence d'une différenciation faible des populations sur *S. arvensis* par rapport à *B. napus* et *B. oleracea*, probablement également en lien avec une préférence comportementale des parasitoïdes pour *S. arvensis* (non testée). Ainsi, à l'inverse de Stireman et al. (2006), notre étude permettrait de voir un effet des espèces de plantes sur les populations de parasitoïdes, sans effet des plantes sur la structuration des populations de phytophages. Face aux caractéristiques chimiques des plantes, il existerait donc deux stratégies : soit une spécialisation et adaptation de tous les génotypes conduisant à une absence de structuration génétique et à une faible diversité génétique (cf. phytophages), soit une divergence de certaines populations sur certaines plantes présentant des mécanismes de défenses conduisant à une structuration faible des populations par espèce de plante (cf. parasitoïdes). De plus, cette potentielle différenciation génétique semble corrélée à une variation morphométrique des parasitoïdes. En effet, les parasitoïdes sont plus grands sur *S. arvensis* par rapport à *B. oleracea* et *B. napus* (cf. Chapitre 1, article 2, figure 1). Les résultats de Medina et Barbosa (2008) montrent également une différenciation phénotypique entre les parasitoïdes *Aleiodes nolophanae* et *Cotesia marginiventris* parasitant la même espèce de phytophage *Hypena scabra* sur deux espèces de plantes hôtes (luzerne et soja). Ces deux

espèces de plantes possèdent différents composés secondaires ayant pu entraîner une qualité différente des phytophages et donc des différences phénotypiques chez ces parasitoïdes. Ces différences phénotypiques pourraient par la suite conduire à une structuration des populations de parasitoïdes en fonction des composés de défense des plantes, comme le suppose notre étude.

Une structuration des populations de parasitoïdes en fonction de la date d'échantillonnage semble également avoir été mise en évidence. Ainsi, les populations de parasitoïdes seraient très divergentes au cours du temps. Ces résultats ne peuvent s'appuyer sur d'autres études étant donné que la plupart d'entre elles ont effectué les échantillonnages à une date donnée (Aebi et al., 2008; Lozier et al., 2009; Stireman et al., 2006).

Enfin ces résultats semblent indiquer une structuration des populations par site, les populations issues des sites forestiers (Bécon) seraient différentes des autres sites (Bouchemaine et Corné). Lozier et al. (2009) ont également montré une structuration des populations de parasitoïdes en fonction de la région, et expliquent leurs résultats par la présence de barrière physique et par les faibles capacités de dispersion des parasitoïdes. De plus, Vaughn et Antolin (1998) ont montré une structuration spatiale chez *D. rapae* due à ses faibles capacités de dispersion (< 1 km). Ces auteurs montrent que la structuration spatiale observée chez cette espèce pourrait également s'expliquer par l'utilisation différente des espèces de phytophages hôtes (Baer et al., 2004; Baker et al., 2003; Nemec and Stary, 1984). Ces hypothèses renforcent la nécessité d'étudier le lien entre le génotype des parasitoïdes et celui des pucerons, afin de dissocier l'effet de l'éloignement spatial, de l'effet des hôtes sur la structuration spatiale de parasitoïdes. Pour répondre à cela, nous espérons pouvoir tester la corrélation entre les deux matrices de F_{ST} grâce à un test de Mantel.

Au sein des agroécosystèmes, les populations de pucerons *B. brassicae* préfèrent les plantes sauvages telles que *B. nigra* (Nault and Styer, 1972; Pettersson, 1973; Pettersson, 1979), mais peuvent tout aussi bien coloniser les plantes cultivées comme *B. oleracea* et *B. napus* étant donné qu'il n'y a pas de structuration génétique des populations. Ainsi, la présence de plantes sauvages près des parcelles cultivées pourrait augmenter les dégâts occasionnés par ce ravageur sur les cultures via l'attraction de *B. brassicae* pour les plantes voisines *B. nigra* et passage sur les plantes cultivées *B. oleracea* et *B. napus*. Lors de la récolte du colza *B. napus* début juillet, les pucerons coloniseraient ensuite les plantes sauvages à proximité. Ces plantes sauvages agiraient donc comme des plantes refuges pour les ravageurs.

Les parasitoïdes sont attirés par les plantes sauvages *B. nigra* (Pope et al., 2008) et les plantes cultivées *B. napus* (Chapitre 2, article 2). Ainsi, les agroécosystèmes principalement composés de colza bénéficieraient d'une bonne protection contre les ravageurs *via* l'attraction des parasitoïdes. De plus, la présence de plantes voisines sauvages comme *B. nigra* près des cultures pourrait attirer les parasitoïdes qui passeraient ensuite sur les ravageurs des cultures. Ces plantes sauvages agiraient donc comme des plantes refuges de parasitoïdes. En revanche, la présence de plantes sauvages telles que *S. arvensis* semble moins profitable pour les cultures étant donné qu'il semble exister une structuration faible des populations en fonction des espèces de plantes (*S. arvensis* vs. *B. oleracea* et *B. napus*). Les parasitoïdes des phytophages rencontrés sur *S. arvensis* pourraient ne pas passer sur les phytophages des plantes cultivées, et *vice versa*.

en cours de rédaction

6.5. Remerciements

Je remercie le laboratoire de l'INRA du Rheu et plus particulièrement Jean Christophe Simon pour ses conseils, Solenn Stoeckel pour l'aide statistique, Lucie Mieuzet pour l'aide technique et la relecture des protocoles et Hélène Magalon pour la relecture du manuscrit.

en cours de rédaction

6.6. Références

- Aebi A, Shani T, Hansson C, Contreras-Garduno J, Mansion G, Benrey B, 2008. The potential of native parasitoids for the control of Mexican bean beetles: A genetic and ecological approach. *Biological Control* 47:289-297.
- Baer CF, Tripp DW, Bjorksten TA, Antolin MF, 2004. Phylogeography of a parasitoid wasp (*Diaeretiella rapae*): no evidence of host-associated lineages. *Molecular Ecology* 13:1859-1869.
- Baker DA, Loxdale HD, Edwards OR, 2003. Genetic variation and founder effects in the parasitoid wasp, *Diaeretiella rapae* 'M'Intosh) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiidae), affecting its potential as a biological control agent. *Molecular Ecology* 12:3303-3311.
- Blande JD, Pickett JA, Poppy GM, 2007. A comparison of semiochemically mediated Interactions involving specialist and generalist *Brassica*-feeding aphids and the braconid parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Journal of Chemical Ecology* 33:767-779.
- Bradburne RP, Mithen R, 2000. Glucosinolate genetics and the attraction of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to Brassica. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 267:89-95.
- Brévault T, Carletto J, Linderme D, Vanlerberghe-masutti F, 2008. Genetic diversity of the cotton aphid *Aphis gossypii* in the unstable environment of a cotton growing area. *Agricultural and forest entomology* 10:215-223.
- Charaabi K, Carletto J, Chavigny P, Marrakchi M, Makni M, Vanlerberghe-masutti F, 2008. Genotypic diversity of the cotton-melon aphid *Aphis*. *Bulletin of Entomological Research*.
- Cogni R, Futuyma DJ, 2009. Local adaptation in a plant herbivore interaction depends on the spatial scale. *Biological Journal of the Linnean Society* 97:494-502.
- Dicke M, 2009. Behavioural and community ecology of plants that cry for help. *Plant Cell and Environment* 32:654-665.
- Feder JL, Roethele FB, Filchak K, Niedbalski J, Romero-Severson J, 2003. Evidence for inversion polymorphism related to sympatric host race formation in the apple maggot fly, *Rhagoletis pomonella*. *Genetics* 163:939-953.
- Figueroa CC, Simon JC, Le Gallic JF, Prunier-Leterme N, Briones LM, Dedryver CA, Niemeyer HM, 2004. Effect of host defense chemicals on clonal distribution and

- performance of different genotypes of the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Journal of Chemical Ecology* 30:2515-2525.
- Figuerola CC, Simon JC, Le Gallic JF, Prunier-Leterme N, Briones LM, Dedryver CA, Niemeyer HM, 2005. Genetic structure and clonal diversity of an introduced pest in Chile, the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Heredity* 95:24-33.
- Forbes AA, Feder JL, 2006. Divergent preferences of *Rhagoletis pomonella* host races for olfactory and visual fruit cues. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 119:121-127.
- Frantz A, Plantegenest M, Mieuze L, Simon JC, 2006. Ecological specialization correlates with genotypic differentiation in sympatric host-populations of the pea aphid. *Journal of Evolutionary Biology* 19:392-401.
- Funk DJ, Filchak KE, Feder JL, 2002. Herbivorous insects: model systems for the comparative study of speciation ecology. *Genetica* 116:251-267.
- Gols R, Harvey JA, 2009. Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochemistry Reviews* 8:187-206.
- Guillemaud T, Mieuze L, Simon JC, 2003. Spatial and temporal genetic variability in French populations of the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. *Heredity* 91:143-152.
- Haack L, Simon JC, Gauthier JP, Plantegenest M, Dedryver CA, 2000. Evidence for predominant clones in a cyclically parthenogenetic organism provided by combined demographic and genetic analyses. *Molecular Ecology* 9:2055-2066.
- Hernandez-Vera G, Mitrovic M, Jovic J, Tosevski I, Caldara R, Gassmann A, Emerson BC, 2010. Host-associated genetic differentiation in a seed parasitic weevil *Rhinusa antirrhini* (Coleoptera: Curculionidae) revealed by mitochondrial and nuclear sequence data. *Molecular Ecology* 19:2286-2300.
- Hopkins RJ, van Dam NM, van Loon JJA, 2009. Role of glucosinolates in insect-plant relationships and multitrophic interactions. *Annual Review of Entomology* 54:57-83.
- Jourdie V, Alvarez N, Molina-Ochoa J, Williams T, Bergvinson D, Benrey B, Turlings TCJ, Franck P, 2010. Population genetic structure of two primary parasitoids of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera), *Chelonus insularis* and *Campoletis sonorensis* (Hymenoptera): to what extent is the host plant important? *Molecular Ecology* 19:2168-2179.
- Kasprowicz L, Malloch G, Pickup J, Fenton B, 2008. Spatial and temporal dynamics of *Myzus persicae* clones in fields and suction traps. *Agricultural and Forest Entomology* 10:91-100.

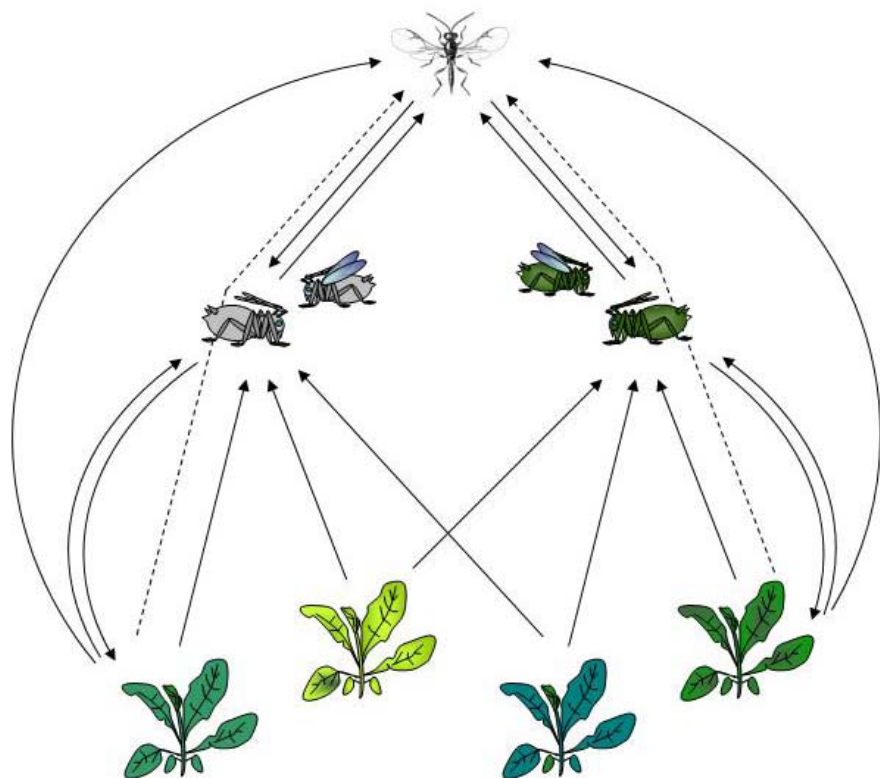
- Le Guigo P, Qu Y, Le Corff J, in press. Plant-mediated effects on a toxin-sequestering aphid and its endoparasitoid. *Basic and Applied Ecology*.
- Leniaud L, Audiot P, Bourguet D, Frerot B, Genestier G, Lee SF, Malausa T, Le Pallec AH, Souqual MC, Ponsard S, 2006. Genetic structure of European and Mediterranean maize borer populations on several wild and cultivated host plants. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 120:51-U4.
- Lozier JD, Roderick GK, Mills NJ, 2009. Molecular markers reveal strong geographic, but not host associated, genetic differentiation in *Aphidius transcaspicus*, a parasitoid of the aphid genus *Hyalopterus*. *Bulletin of Entomological Research* 99:83-96.
- Lushai G, Sherratt TN, David O, De Barro PJ, Maclean N, 1997. Host selection by winged summer females of the aphid *Sitobion avenae*. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 85:199-209.
- Macdonald C, Brookes CP, Edwards KJ, Baker DA, Lockton S, Loxdale HD, 2003. Microsatellite isolation and characterization in the beneficial parasitoid wasp *Diaeretiella rapae* (M'Intosh) (Hymenoptera: Braconidae: Aphidiinae). *Molecular Ecology Notes* 3.
- Margaritopoulos JT, Malarky G, Tsitsipis JA, Blackman RL, 2007. Microsatellite DNA and behavioural studies provide evidence of host-mediated speciation in *Myzus persicae* (Hemiptera : Aphididae). *Biological Journal of the Linnean Society* 91:687-702.
- Martel C, Rejasse A, Rousset F, Bethenod MT, Bourguet D, 2003. Host-plant-associated genetic differentiation in Northern French populations of the European corn borer. *Heredity* 90:141-149.
- Medina RF, Barbosa P, 2008. The role of host plant species in the phenotypic differentiation of sympatric populations of *Aleiodes nolophanae* and *Cotesia marginiventris*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 128:14-26.
- Michel AP, Rull J, Aluja M, Feder JL, 2007. The genetic structure of hawthorn-infesting *Rhagoletis pomonella* populations in Mexico: implications for sympatric host race formation. *Molecular Ecology* 16:2867-2878.
- Miller NJ, Kift NB, Reynolds KA, Greatorex EC, Lynn J, Tatchell GM, non publié. Reproductive strategies of the cabbage aphid, *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae), inferred from genetic analysis. unpublished data.
- Miller SA, Dykes DD, Polesky HF, 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 16.

- Nault LR, Styer WE, 1972. Effects of sinigrin on host selection by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 15:423-437.
- Nemec V, Stary P, 1984. Population diversity of *Diaeretiella rapae* (M'Int.) (Hym., Aphidiidae), an aphid parasitoid in agroecosystems. *Zeitschrift Fuer Angewandte Entomologie* 97:223-233.
- Nottingham SF, Hardie J, Dawson GW, Hick AJ, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM, 1991. Behavioral and Electrophysiological Responses of Aphids to Host and Nonhost Plant Volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 17:1231-1242.
- Peccoud J, Ollivier A, Plantegenest M, Simon JC, 2009. A continuum of genetic divergence from sympatric host races to species in the pea aphid complex. *PNAS*.
- Pettersson J, 1973. Olfactory reactions of *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hom.:Aph.). *Swedish journal of agriculture Research* 3:95-103.
- Pettersson J, 1979. Aphids and host plant communication. *Symb. Bot. Upsal.* 4:107-113.
- Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM, Hardie J, 1992. The Chemical Ecology of Aphids. *Annual Review of Entomology* 37:67-90.
- Pope TW, Kissen R, Grant M, Pickett JA, Rossiter JT, Powell G, 2008. Comparative Innate Responses of the Aphid Parasitoid *Diaeretiella rapae* to Alkenyl Glucosinolate Derived Isothiocyanates, Nitriles, and Epithionitriles. *Journal of Chemical Ecology* 34:1302-1310.
- R-Development-Core-Team, 2008. R: A language and environment for statistical computing. In: *R Foundation for Statistical Computing*.
- Read DP, Feeny PP, Root RB, 1970. Habitat selection by the aphid parasite *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) and hyperparasite *Charips brassicae* (Hymenoptera: cynipidae). *The Canadian Entomologist* 102:1567-1578.
- Reed HC, Tan SH, Haapanen K, Killmon M, Reed DK, Eklliott NC, 1995. Olfactory responses of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (hymenoptera: Aphidiidae) to odor of plants, aphids, and plant-aphid complexes. *Journal of Chemical Ecology* 21:407-418.
- Restoux G, Hossaert-Mckey M, Benrey B, Alvarez N, 2010. The effect of host plant and isolation on the genetic structure of phytophagous insects: A preliminary study on a bruchid beetle. *European Journal of Entomology* 107:299-304.
- Rosas-Garcia NM, Sarmiento-Benavides SL, Villegas-Mendoza JM, Hernandez-Delgado S, Mayek-Perez N, 2010. Genetic Differentiation Among *Maconellicoccus hirsutus* (Hemiptera: Pseudococcidae) Populations Living on Different Host Plants. *Environmental Entomology* 39:1043-1050.

- Ruiz-Montoya L, Nunez-Farfan J, Vargas J, 2003. Host-associated genetic structure of Mexican populations of cabbage aphid *Brevicoryne brassicae* L. *Heredity* 91.
- Sandstrom J, 1994. High variation in host adaptation among clones of the pea aphid, *Acyrtosiphon-pisum* on peas, *Pisum-sativum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 71:245-256.
- Simon JC, Baumann S, Sunnucks P, Hebert PDN, Pierre JS, Le Gallic JF, Dedryver CA, 1999. Reproductive mode and population genetic structure of the cereal aphid *Sitobion avenae* studied using phenotypic and microsatellite markers. *Molecular Ecology* 8:531-545.
- Stireman JO, Nason JD, Heard SB, Seehawer JM, 2006. Cascading host-associated genetic differentiation in parasitoids of phytophagous insects. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences* 273:523-530.
- Sunnucks P, Hales DF, 1996. Numerous transposed sequences of mitochondrial cytochrome oxidase I-II in aphid of the genus *Sitobion* (Hemiptera: Aphididae). *Molecular biology and evolution* 13:510-524.
- Sword GA, Joern A, Senior LB, 2005. Host plant-associated genetic differentiation in the snakeweed grasshopper, *Hesperotettix viridis* (Orthoptera : Acrididae). *Molecular Ecology* 14:2197-2205.
- Titayavan M, Altieri MA, 1990. Synomone-mediated interactions between the parasitoid *Diaeretiella rapae* and *Brevicoryne brassicae* under field conditions. *Entomophaga* 35:499-507.
- Toneatto F, Nielsen JK, Orgaard M, Hauser TP, 2010. Genetic and sexual separation between insect resistant and susceptible *Barbarea vulgaris* plants in Denmark. *Molecular Ecology* 19:3456-3465.
- Vanlerberghe-Masutti F, Chavigny P, 1998. Host-based genetic differentiation in the aphid *Aphis gossypii* Glover, evidenced from RAPD fingerprints. *Molecular Ecology* 7:905-914.
- Vaughn TT, Antolin MF, 1998. Population genetics of an opportunistic parasitoid in an agricultural landscape. *Heredity* 80:152-162.
- Vaughn TT, Antolin MF, Bjostad LB, 1996. Behavioral and physiological responses of *Diaeretiella rapae* to semiochemicals. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 78:187-196.

- Via S, 1991a. The genetic-structure of host plant adaptation in a spatial patchwork - demographic variability among reciprocally transplanted pea aphid clones. *Evolution* 45:827-852.
- Via S, 1991b. Specialized host plant performance of pea aphid clones is not altered by experience. *Ecology* 72:1420-1427.
- Via S, 1999. Reproductive isolation between sympatric races of pea aphids. I. gene flow restriction and habitat choice. *Evolution* 53:1446-1457.
- Via S, Bouck AC, Skillman S, 2000. Reproductive isolation between divergent races of pea aphids on two hosts. II. selection against migrants and hybrids in the parental environments. *Evolution* 54:1626-1637.
- Vialatte A, Dedryver CA, Simon JC, Galman M, Plantegenest M, 2005. Limited genetic exchanges between populations of an insect pest living on uncultivated and related cultivated host plants. *Proceedings of the royal society B* 272:1075-1082.
- Wilson ACC, Massonnet B, Simon JC, Prunier-Leterme N, Dolatti L, Llewellyn KS, Figueroa CC, Ramirez CC, Blackman RL, Estoup A, Sunnucks P, 2004. Cross-species amplification of microsatellite loci in aphids: assessment and application. *Molecular Ecology Notes* 4:104-109.
- Zitoudi K, Margaritopoulos JT, Mamuris Z, Tsitsipis JA, 2001. Genetic variation in *Myzus persicae* populations associated with host-plant and life cycle category. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 99:303-311.

Synthèse et Perspectives



7. Discussion

7.1. Les plantes peuvent-elles réguler les populations de phytophages généralistes et spécialistes (effet Bottom Up) ?

7.1.1. Etude des performances des phytophages généralistes

Nous avons supposé (page 11) que le taux de croissance des populations de *M. persicae* serait plus élevé sur les espèces cultivées que sur les espèces sauvages. En effet, les performances des phytophages généralistes sont censées être réduites sur les plantes sauvages (Li *et al.*, 2000; Karowe et Schoonhoven, 1992). En particulier, la présence de défenses chimiques tels que les glucosinolates sont censées réduire les performances des phytophages généralistes (Gols *et al.*, 2008; Agrawal et Kurashige, 2003). Toutefois, les performances de *M. persicae* ne sont pas réduites sur les plantes sauvages, et sont au contraire réduites sur une plante cultivée *B. napus* (Figure 1). Sur cette plante cultivée, un poids plus faible et une durée pré-reproductive plus longue se traduisent par un taux intrinsèque de croissance des populations plus faible sur *B. napus* que sur les trois autres espèces de plantes. Cependant, les caractéristiques de *B. napus* qui expliquent cet impact sur les populations de ce phytophage ne sont pas identifiées. De plus, les résultats que nous avons obtenus ne peuvent pas être expliqués au vu des différences entre espèces cultivées et sauvages qui avaient été mises en avant en introduction (cires, GLS etc.).

Comme ce puceron est capable d'excréter les composés de défenses des Brassicacées (Merritt, 1996) ou de les détoxifier (Ramsey *et al.*, 2010; Francis *et al.*, 2005), ces composés n'ont peut-être pas d'effet sur ses performances, malgré un potentiel coût lié à l'excrétion des défenses. De plus, Kasprówicz *et al.* (2008) montrent que certains clones de *Myzus persicae* se retrouvent exclusivement sur Brassicacées et se différencient génétiquement de ceux retrouvés sur Solanacées, ce qui expliquerait les bonnes performances de *M. persicae* sur les Brassicacées sauvages et les performances réduites sur *S. lycopersicum*. Il est possible que nous ayons, dans le cadre de cette étude, sélectionné un clône spécialiste des Brassicacées. En effet, les pucerons ont été élevés pendant 10 générations en laboratoire sur des *B. oleracea*, ce qui a pu entraîner la sélection d'individus aptes à se développer uniquement sur des Brassicacées et non sur des Solanacées.

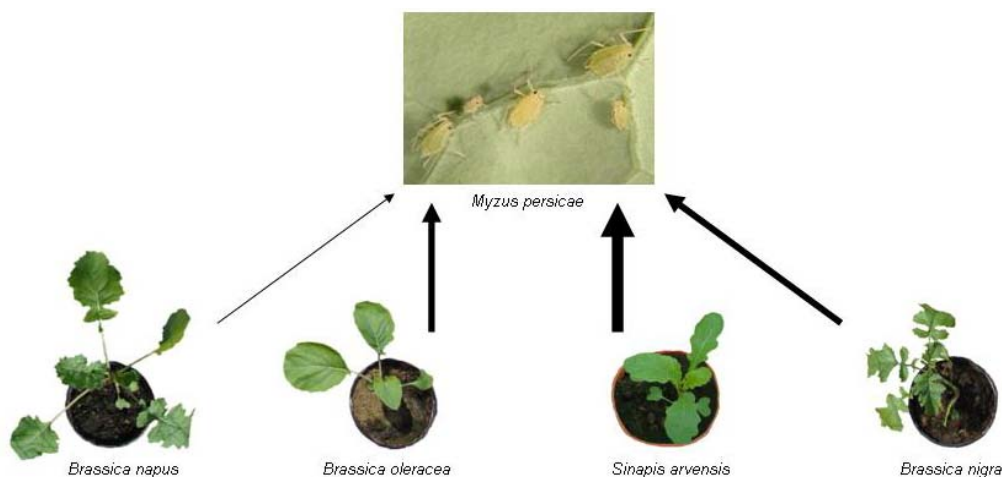


Figure 1 : Résultat : il n'y a pas de régulation des populations de phytophages généralistes *M. persicae* via l'effet « Bottom Up » des plantes. Les performances du phytophage généraliste *M. persicae* sont réduites sur le colza *B. napus* par rapport aux plantes sauvages *S. arvensis*. La grosseur des flèches indique des performances plus ou moins bonnes.

7.1.2. Etude des performances des phytophages spécialistes

Les systèmes de détoxification des défenses permettent à certains phytophages spécialistes d'avoir des performances équivalentes sur les plantes quelque soient leurs niveaux de défenses (Gols *et al.*, 2007; Bennett et Wallsgrave, 1994; Hopkins *et al.*, 1998). Concernant les phytophages spécialistes (page 14), les performances de *Br. brassicae* qui séquestre les défenses sont équivalentes sur les différentes espèces de plantes, avec toutefois une longévité accrue et un poids plus faible sur *B. oleracea* (Figure 2). Ce puceron qui est capable de séquestrer les GLS des plantes, se développe de manière équivalente sur ces plantes de la famille des Brassicacées. Ainsi, la plupart des *Br. brassicae* peuvent exploiter toutes les espèces de Brassicacées, ce qui est en partie dû à une absence de structuration génétique en fonction des plantes hôtes. Cette adaptation de la plupart des pucerons à différentes espèces de Brassicacées pourrait être due à l'instabilité des ressources.

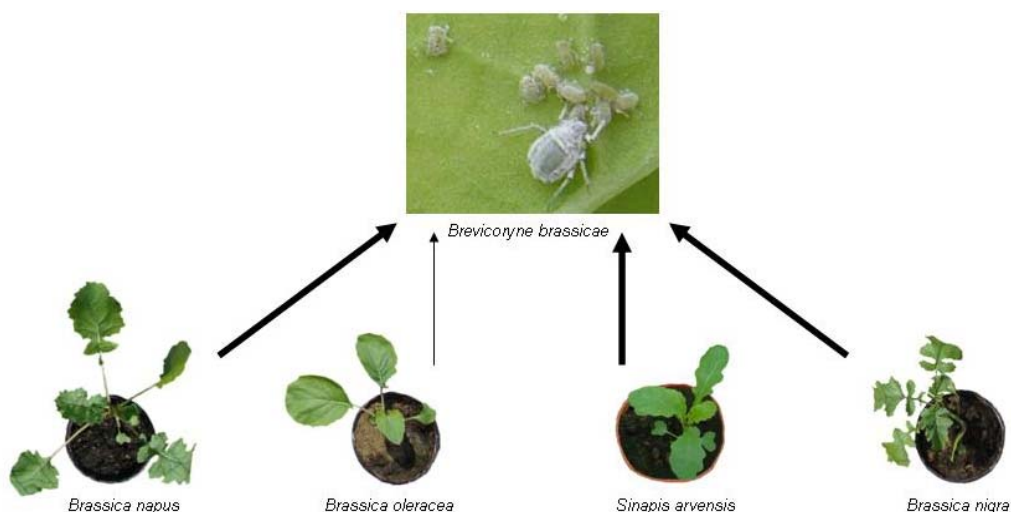


Figure 2 : Résultat : il n'y a pas de régulation des populations de phytophages spécialistes *Br. brassicae* via l'effet « Bottom Up » des plantes. Les performances du phytophage spécialiste *Br. brassicae* sont équivalentes sur les différentes espèces de plantes hôtes mais semblent légèrement réduites sur *B. oleracea* (longévité, poids). La grosseur des flèches indique des performances plus ou moins bonnes.

7.1.3. Comparaison des performances des phytophages spécialistes et généralistes

Plusieurs études ont déjà comparé les performances de phytophages spécialistes aux performances de phytophages généralistes (Gols *et al.*, 2008; Poelman *et al.*, 2008b; Harvey *et al.*, 2005; Wittstock *et al.*, 2003; Agrawal, 2000; Francis *et al.*, 2000). Ces études montrent que les performances des phytophages généralistes sont réduites sur les plantes possédant un niveau élevé de défenses par rapport à celles des spécialistes. Cependant, peu d'études comparent les performances des phytophages généralistes et spécialistes sur les mêmes plantes hôtes (excepté Gols *et al.*, 2008; Poelman *et al.*, 2008b; Harvey *et al.* 2005 qui montrent l'importance de la prise en compte du degré de spécialisation de phytophages broyeur). Ainsi, nous nous attendions à ce que les performances du phytophage spécialiste *Br. brassicae* soient supérieures à celles du généraliste *M. persicae*, étant donné que ce puceron séquestre les glucosinolates. Néanmoins, les comparaisons entre ces deux espèces de pucerons montrent que même si *Br. brassicae* pond en moyenne plus de larves en 24h que *M. persicae* sur toutes les espèces de plantes, ces larves ont une mortalité plus importante, une durée pré-reproductive plus longue, produisent plus d'ailés (forme de dispersion), pèsent moins lourd, et vivent moins longtemps que les larves de *M. persicae* (Tableau 1). La fécondité totale est le seul facteur à prendre en compte qui est identique en fonction des espèces de pucerons. Enfin, le taux intrinsèque de croissance des populations de *Br. brassicae* étant réduit par rapport à celui de *M. persicae*, nous pouvons dire que le puceron généraliste *M. persicae* est plus performant que le puceron spécialiste *Br. brassicae* sur les plantes de la

famille des Brassicacées, et principalement sur *B. nigra*, *B. oleracea* et *S. arvensis*. Ces résultats tendraient à montrer que la séquestration des composés de défenses par le puceron spécialiste serait un phénomène plus coûteux que l'excrétion de ces mêmes composés par le puceron généraliste. Cependant, cela reste à démontrer.

Dans le milieu naturel, ces espèces spécialistes et généralistes se rencontrent rarement sur les mêmes plantes. Toutefois, lorsqu'elles le sont, ces espèces exploitent des parties différentes de la plante. *M. persicae* se nourrit préférentiellement sur les feuilles sénescences (Merritt, 1996), tandis que *Br. brassicae* se nourrit sur les jeunes feuilles de l'apex des plantes (parties riches en composés secondaires et en acides aminés) (Nieto *et al.*, 2006). Cette répartition spatiale limiterait la compétition pour la ressource entre ces deux espèces de phytophages.

Tableau 1 : Comparaison entre les performances des phytophages spécialistes et des phytophages généralistes sur quatre espèces de plantes *B. napus*, *B. oleracea*, *B. nigra* et *S. arvensis*. D'une manière globale, *M. persicae* possède des performances accrues sur ces plantes par rapport à *Br. brassicae*.

<i>Brevicoryne brassicae</i> (Chapitre I b)			<i>Myzus persicae</i> (Chapitre I a)		
LARVES					
Nombre de larves pondues en 24h	=	>		=	
Mortalité larvaire	=	>		=	
Période pré-reproductive	=	>	<u><i>B. napus</i></u> > (<i>B. oleracea</i> = <i>S. arvensis</i> = <i>B. nigra</i>)		
Forme adultes (aillés)	=	>		=	
Poids des adultes	<i>(B. napus</i> = <i>B. nigra</i>) ≥ <i>S. arvensis</i> ≥ <u><i>B. oleracea</i></u>		<	<u><i>B. napus</i></u> < (<i>S. arvensis</i> = <i>B. nigra</i>) < <i>B. oleracea</i>	
ADULTES					
Longévité	<u><i>B. oleracea</i></u> ≥ <i>B. napus</i> ≥ (<i>S. arvensis</i> = <i>B. nigra</i>)		<		=
Fécondité totale	=	=		=	
Taux intrinsèque de croissance	=	<	<u><i>B. napus</i></u> < (<i>B. oleracea</i> = <i>S. arvensis</i> = <i>B. nigra</i>)		

D'une manière plus globale, les différences que nous avons observées entre les performances des phytophages généralistes et spécialistes semblent concordantes avec celles obtenues par Harvey *et al.* (2005). Ces auteurs montrent que certaines caractéristiques des plantes peuvent affecter les performances des phytophages généralistes *Spodoptera exigua* et ne pas affecter celles des spécialistes *Melitaea cinxia* qui sont équivalentes selon les lignées de plantes (*Plantago lanceolata*). Néanmoins, concernant les phytophages broyeurs de Brassicacées, Gols *et al.* (2008) montrent que les plantes sauvages affectent négativement les performances des phytophages spécialistes *Plutella xylostella* et *Pieris rapae* et généralistes *Mamestra brassicae*, tandis que Poelman *et al.* (2008b) montrent qu'elles n'affectent pas les performances des généralistes *Mamestra brassicae* et des spécialistes *Plutella xylostella*. Ainsi, l'impact des plantes sur les performances des phytophages semble dépendre de leur

degré de spécialisation. De plus, les plantes pourraient avoir un impact différent sur les phytophages selon leur mode de nutrition (broyeur vs. piqueur-suceur). En effet, les phytophages broyeurs sont en contact avec le tissu des plantes, tandis que les phytophages piqueur-suceurs ne sont en contact qu'avec la sève des plantes. Une étude permettant de comparer les performances de deux phytophages piqueurs-suceurs généralistes et spécialistes et de deux phytophages broyeurs généralistes et spécialistes permettrait de tester l'importance du mode de nutrition des phytophages sur leurs performances.

7.1.4. Etude des préférences des phytophages spécialistes

Concernant le choix des phytophages spécialistes lors de la colonisation des plantes hôtes (hypothèse page 16), les caractéristiques des plantes de l'environnement proche semblent influencer la sélection de la plante cible. Lors des expérimentations de colonisation en conditions naturelles des plantes cibles par les pucerons en fonction des plantes voisines, le puceron spécialiste *Br. brassicae* semble attiré par *B. nigra* et passerait ensuite sur la plante cible *B. oleracea* (Figure 3). Cette attraction pour les plantes voisines conduit à de la susceptibilité par association pour la plante cible *B. oleracea*. Cette étude confirme donc l'importance des caractéristiques des plantes voisines lors de la colonisation des plantes cibles par des phytophages spécialistes. L'attraction des pucerons spécialistes pour *B. nigra* pourrait être due à la présence de composés chimiques volatils comme les allyl-isothiocyanates. En effet, certains auteurs comme Toth et al. (2007) ont montré que les phytophages du genre *Phyllotreta* étaient attirés par des pièges à odeurs avec allyl-isothiocyanates. De même que Blight et Smart (1999) ont montré que *Meligethes aeneus* est attiré par les isothiocyanates. Ainsi, comme nous l'avons suggéré précédemment (page 73), l'attraction de *B. brassicae* pour *B. nigra* serait due à des composés induits volatils tels que les allyl-isothiocyanates.

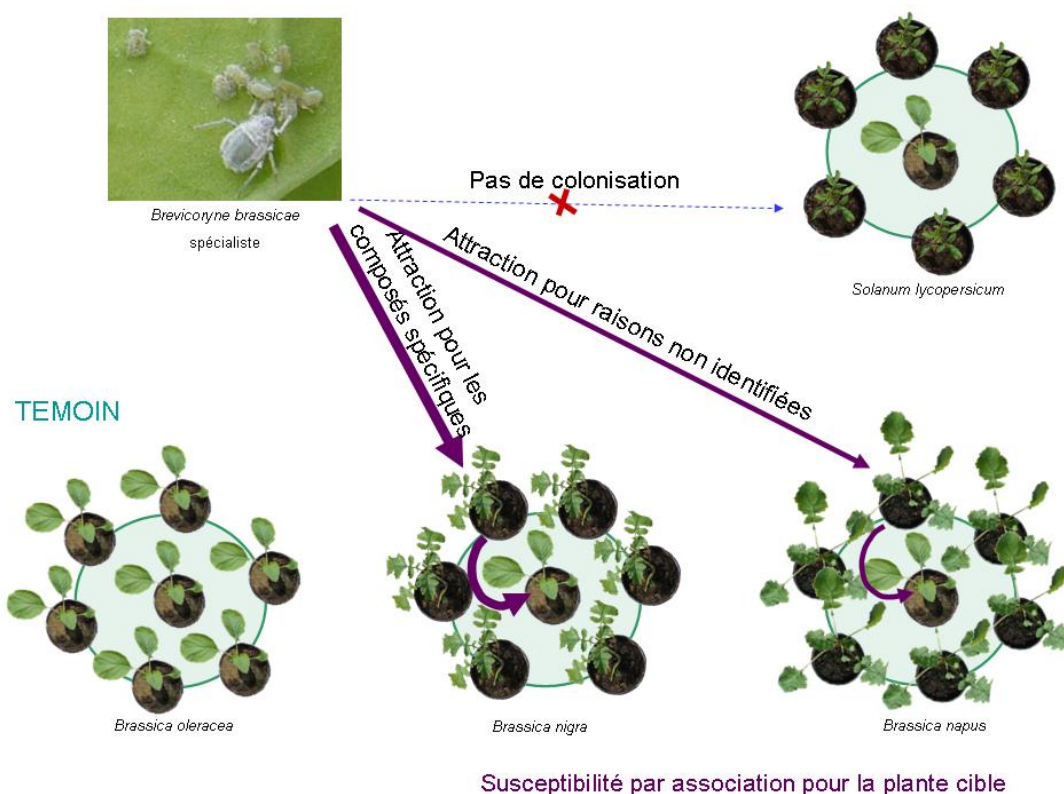


Figure 3 : Résultat : les plantes voisines influence la colonisation des plantes cibles par le phytophage spécialiste *Br. brassicae*. Les pucerons spécialistes sont attirés par *B. nigra*, mais colonisent également *B. napus*, ce qui conduit dans les deux cas à de la susceptibilité par association pour la plante cible.

7.1.5. Etude des préférences des phytophages généralistes

Les préférences des phytophages généralistes pour une plante pourraient également être influencées par la présence de plantes voisines. Comme nous l'avons supposé (page 16), le puceron généraliste colonise préférentiellement *B. napus* et semble repoussé par *B. nigra* et *S. lycopersicum* (Figure 4). Contrairement aux résultats obtenus avec *Br. brassicae*, l'attraction pour les plantes voisines ne donne pas lieu à de la susceptibilité par association, et conduit dans les trois cas à de la résistance par association, soit par attraction soit par répulsion. Cette étude confirme donc l'importance d'étudier l'influence des plantes voisines sur la colonisation par des phytophages généralistes d'une plante cible, ce qui n'a encore jamais été mis en avant précédemment.

Ainsi, le choix des phytophages généralistes pour la plante cible en fonction de son environnement proche est différent de celui des phytophages spécialistes. Les pucerons spécialistes seraient peut-être attirés par les allyl-isothiocyanates tandis que l'établissement d'un nombre plus ou moins grand de pucerons généralistes serait lié à la qualité nutritive des

plantes. Les plantes voisines ont donc un impact différent en fonction du degré de spécialisation des phytophages sur le résultat de la colonisation.

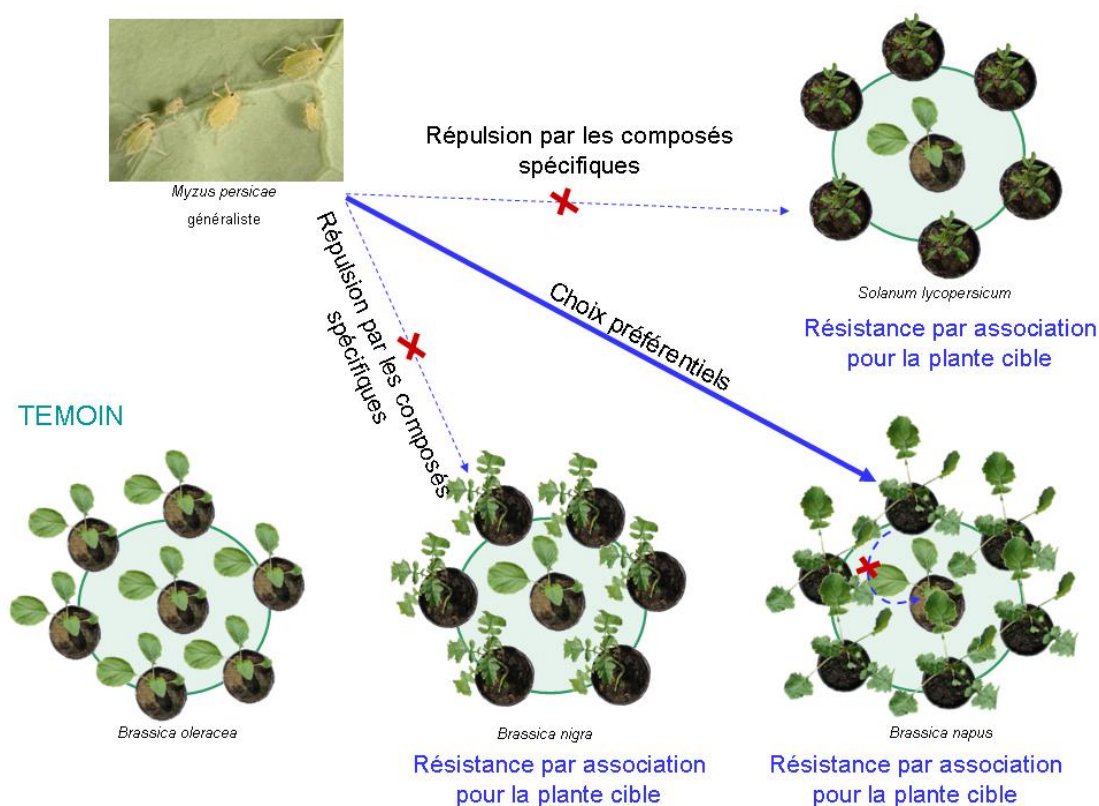


Figure 4 : Résultat : les plantes voisines influence la colonisation des plantes cibles par le phytophage généraliste *M. persicae*. Les pucerons généralistes sont repoussés par *B. nigra* et *S. lycopersicum* et l'installation de leurs colonies est plus importante sur *B. napus*. Ces choix conduisent dans les trois cas à de la résistance par association pour la plante cible.

7.1.6. Lien entre les performances et les préférences des phytophages spécialistes et généralistes

D'une manière générale, les performances des phytophages concordent avec leurs préférences. En effet *Br. brassicae* possède des performances légèrement réduites sur *B. oleracea* et colonise très peu cette plante. *M. persicae* possède des performances faibles sur *S. lycopersicum* et est repoussé par cette plante. Ces résultats sont concordants avec l'hypothèse de « préférence – performance » développée par Gripenberg (2010) qui prédit que le choix de ponte sur une plante par des femelles phytophages devrait favoriser les performances de ses descendants sur cette même plante.

Toutefois, les préférences de *M. persicae* ne correspondent pas à leurs performances sur *B. napus*. En effet, *M. persicae* colonise préférentiellement *B. napus* lors des expérimentations

de terrain alors que ses performances sont réduites sur cette espèce. Cette colonisation préférentielle de *B. napus* ne s'explique pas par une réduction de la compétition avec *Br. brassicae*, étant donné que ces espèces de pucerons exploitent des parties différentes de la plante (Nieto *et al.*, 2006; Merritt, 1996). Elle ne s'explique pas non plus par une réduction de la pression de parasitisme, *D. rapae* étant attiré par *B. napus*, et probablement pas non plus par une réduction de la pression de prédation. En effet, les prédateurs auraient tendance à privilégier la prédation de proies se développant sur des plantes présentant peu de mécanismes de défenses telles que *B. napus*. Le choix de *M. persicae* pour *B. napus* est donc difficile à expliquer.

D'un point de vue de dynamique des populations, *Br. brassicae* est préférentiellement attiré par *B. nigra* sur laquelle il possède un taux de croissance important. La moutarde noire (*B. nigra*) pourrait donc être une plante qui permet le maintien des populations de *Br. brassicae* dans les agroécosystèmes et pourrait être considérée comme une plante réservoir de ravageurs. Toutefois, la prise en compte de l'abondance des plantes est également importante pour vérifier une telle hypothèse. En effet, *B. nigra* est une espèce rarement présente dans les agroécosystèmes par rapport aux plantes cultivées *B. napus* et *B. oleracea*.

En comparaison, *M. persicae* est attiré par *B. napus* qui ralentit pourtant son développement. On peut supposer que l'importante abondance de *B. napus* par rapport aux plantes sauvages pourrait avantager les populations de *M. persicae* lors de la phase de localisation de l'habitat, et expliquer le comportement de choix de ces pucerons. Néanmoins, nous ne disposons actuellement d'aucun argument pour le prouver.

7.2. Les parasitoïdes peuvent-ils réguler les populations de phytophages généralistes et spécialistes (effet Top Down) ?

Les plantes peuvent avoir un effet indirect sur les ennemis naturels (*via* les performances des phytophages) ou direct sur la colonisation des ennemis naturels (*via* l'attraction par les plantes 'attaquées': on parle alors de défenses indirectes).

7.2.1. Etude des performances des parasitoïdes se développant sur des phytophages généralistes

Le phytophage constituant la ressource de la larve du parasitoïde, nous avons supposé (page 11) que les performances d'un parasitoïde seraient réduites lorsque son hôte généraliste se

nourrit sur une plante riche en composés secondaires. Les performances des parasitoïdes étaient supposées être en étroite corrélation avec les performances de leurs hôtes (Harvey 2005). Les résultats que nous avons obtenus semblent montrer une influence combinée du phytophage et de la plante sur les performances des parasitoïdes (Figure 5) puisque d'un côté les parasitoïdes femelles sont plus grandes et la durée de momification est plus courte lorsque *M. persicae* se développe sur *B. napus*, espèce sur laquelle les pucerons sont en moyenne plus petits. De l'autre côté, les parasitoïdes mâles sont plus grands lorsque les pucerons hôtes se développent sur *S. arvensis*, espèce sur laquelle les pucerons sont en moyenne plus gros. Dans le premier cas, on a une influence de la plante et dans le second cas, de la qualité de l'hôte. De plus, ces résultats diffèrent en fonction du sexe du parasitoïde, sans que nous puissions expliquer.

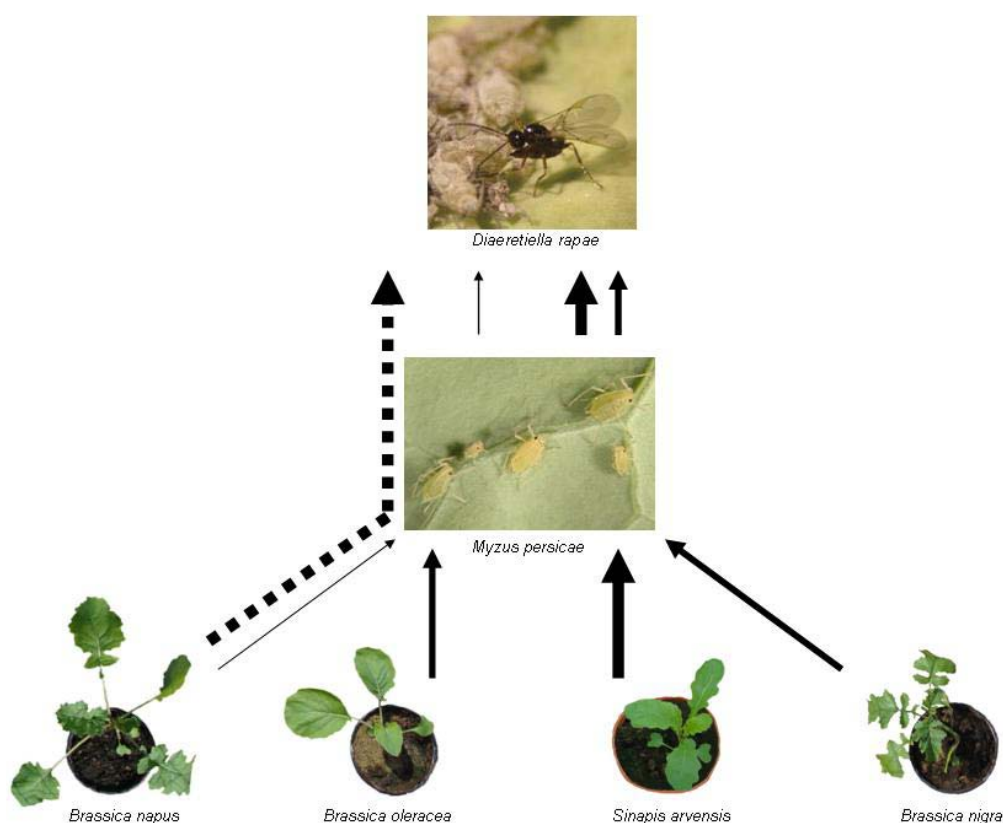


Figure 5 : Résultat : les performances du parasitoïde *D. rapae* sont augmentées lorsque *M. persicae* se développe sur *B. napus* et *S. arvensis* par rapport à *B. oleracea*.

7.2.2. Etude des performances des parasitoïdes se développant sur des phytophages spécialistes

Concernant les phytophages spécialistes (hypothèse page 14), leur adaptation aux défenses des plantes a pu être coûteuse mais est supposée leur procurer des avantages tels que la

réduction de la pression de prédation ou de parasitisme. Par exemple, Desneux et al. (2009) montre que la séquestration des composés de défenses tels que les cardenolides par des pucerons *Aphis nerii* réduit les performances d'une espèce de parasitoïde *Binodoxys communis*. Ainsi, nous avons supposé que les performances des parasitoïdes seraient réduites sur *Br. brassicae* se développant sur des plantes possédant un niveau élevé de défenses chimiques. La séquestration des composés secondaires des plantes par les phytophages spécialistes était supposée réduire le taux de parasitisme des populations de phytophages (effet « Top Down »). Néanmoins, les performances du parasitoïde *D. rapae* sur *Br. brassicae* sont équivalentes sur les différentes espèces de plantes (Figure 6). Les parasitoïdes femelles sont mêmes plus grandes sur les plantes sauvages *S. arvensis* ou *B. nigra*. Ces résultats sont cohérents avec ceux que l'on a observés sur le terrain et ceux obtenus par Bukovinszky et al (2008) sur des *B. oleracea* sauvages. Pourtant, il est difficile d'expliquer pourquoi *D. rapae* se développe mieux quand ses hôtes se nourrissent de plantes possédant un niveau élevé de défenses. Les larves de l'endoparasitoïde *D. rapae* pourraient être exposées aux GLS séquestrés par leurs hôtes uniquement à certains moments de leurs développements, elles pourraient également être capables de détoxifier les GLS, ou d'interférer avec le processus de séquestration des défenses, ou encore d'éviter les tissus endommagés qui mettent en contact les GLS et la myrosinase des pucerons par exemple en exploitant uniquement l'abdomen du puceron. En conséquence, les phytophages spécialistes contournent les défenses des plantes sans pour autant réduire le taux de parasitisme, la taille ou la survie des parasitoïdes.

Par ailleurs, les performances des parasitoïdes *D. rapae* semblent être en lien avec celles de leurs hôtes *Br. brassicae*, puisque le taux de parasitisme à 5 jours et au stade momie est réduit, la durée d'émergence est allongée, et la taille est plus faible sur *B. oleracea* que sur les autres espèces. Néanmoins, des performances réduites chez les phytophages spécialistes ne donnent pas toujours lieu à des performances réduites chez les parasitoïdes, et inversement. En effet, les performances accrues de certains phytophages spécialistes peuvent empêcher le développement des stades larvaires de parasitoïdes. Par exemple, certains phytophages tels que *Pieris rapae* se développent bien sur des variétés de *B. oleracea* cultivé et sont capables d'encapsuler les larves du parasitoïde *Cotesia glomerata* (Bukovinszky et al., 2009). L'encapsulation des larves de parasitoïdes par les phytophages peut donc limiter la pression de parasitisme exercée par les parasitoïdes : l'effet « Top Down ». Lors de notre étude, le taux de parasitisme des pucerons à 5 jours n'étant pas significativement différent entre les espèces de plantes hôtes, il est très peu probable qu'il y ait eu encapsulation des larves de parasitoïdes. Les performances réduites des parasitoïdes sur *B. oleracea* ne seraient pas en lien avec un

phénomène d'encapsulation des larves par le puceron *Br. Brassicae*, et sont supposées être en relation avec les caractéristiques de la plante hôte. En effet, *B. oleracea* pourrait être une espèce moins nutritive pour le phytophage spécialiste et donc pour le parasitoïde que les trois autres espèces de plantes, cependant aucune donnée ne permet d'appuyer cette hypothèse.

Lors de cette thèse, nous avons pris en compte plusieurs espèces de plantes, il serait maintenant intéressant de prendre en compte plusieurs espèces d'ennemis naturels pour tester si l'effet « Top Down » varie en fonction des ennemis naturels et de leur degré de spécialisation. En effet, nous pourrions supposer que les performances de parasitoïdes généralistes comme *Praon volucre* ou *Ephedrus* sp se développant sur *Br. brassicae* seraient réduites sur les plantes sauvages.

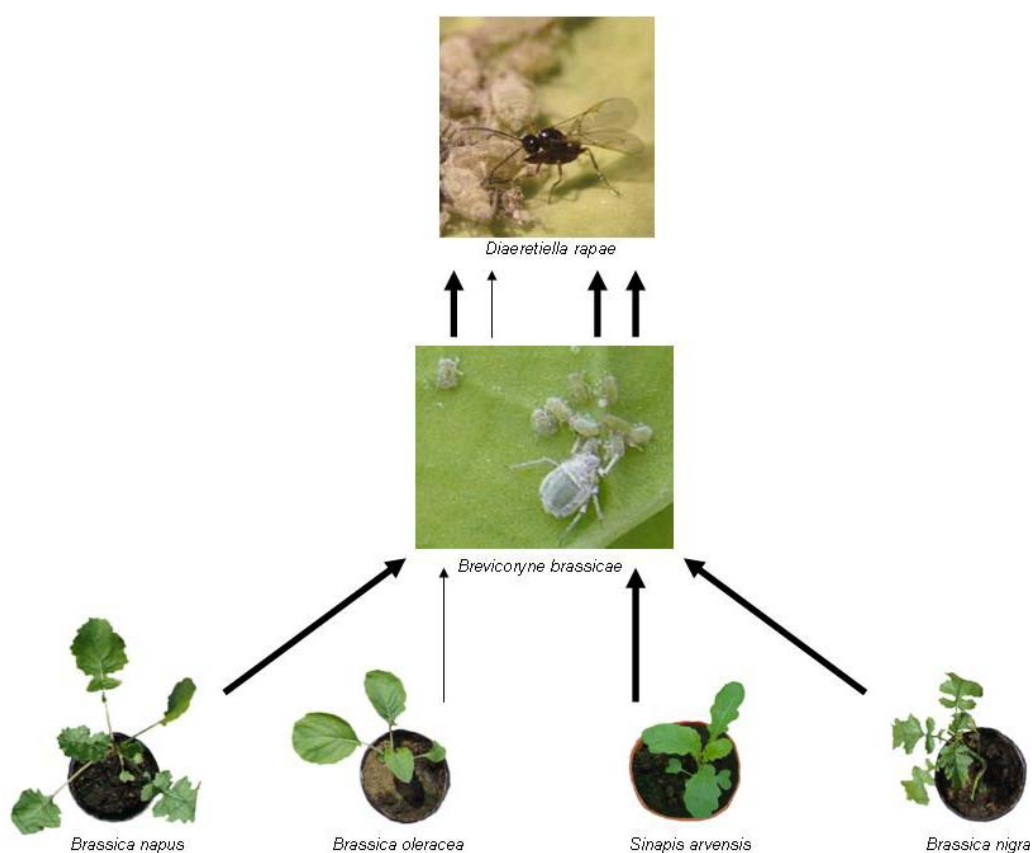


Figure 6 : Résultat : Les performances du parasitoïde *D. rapae* ne sont pas accrues lorsque *Br. brassicae* se nourrit sur les plantes cultivées et semblent plutôt être en lien avec les performances de leurs hôtes.

7.2.3. Comparaison des performances des parasitoïdes se développant sur des phytophages spécialistes et généralistes

Concernant les performances des parasitoïdes sur des hôtes en fonction de leur degré de spécialisation, nous supposons que le parasitoïde *D. rapae* aurait un meilleur développement sur le phytophage généraliste *M. persicae* que sur le spécialiste *Br. brassicae*. En effet, à la

différence de *M. persicae* qui excrète les GLS des plantes, *Br. brassicae* les séquestre. Au contraire, nous observons un taux de parasitisme réduit (à 5 jours et au stade momies), une durée de développement et une longévité allongée sur *M. persicae* par rapport à *Br. brassicae*. L'accroissement de la longévité peut accroître le risque d'hyperparasitisme (Benrey et Denno, 1997) et peut donc être considéré comme un trait néfaste s'il n'est pas accompagné d'une plus grande fécondité (non mesurée dans notre étude). *M. persicae* ne semble donc pas être un hôte permettant un bon développement de *D. rapae*. Blande (2004) montre également que le nombre de momies produites par *D. rapae* est plus important sur un autre puceron qui séquestre les glucosinolates *L. erysimi*, que sur *M. persicae*. Ainsi en accord avec Blande (2004), et à la différence des études précédemment effectués sur des prédateurs (Francis *et al.*, 2001; Francis *et al.*, 2000), les résultats de cette thèse indiquent que la fitness de *D. rapae* est accrue sur les phytophages qui séquestrent des glucosinolates par rapport aux phytophages qui excrètent. Cependant, ces résultats demandent à être confirmés par d'autres études portant sur d'autres espèces de parasitoïdes et de prédateurs, étant donné qu'il existe de grosses différences entre prédateurs et parasitoïdes en termes de développement aux dépends de l'hôte.

Ces résultats paraissent d'autant plus surprenants que nous avons montré précédemment que les performances du phytophage généraliste sont plus élevées que celles du spécialiste sur les Brassicacées. Ces résultats indiquent que les performances des parasitoïdes ne sont pas strictement liées au poids de leurs hôtes qui constituent seulement un des aspects de la qualité de l'habitat pour le parasitoïde. En effet, Hackermann *et al.* (2007) montrent qu'il n'y a pas de relation entre la taille de l'hôte et sa qualité nutritive pour le développement du parasitoïde, ce qui explique que certains auteurs ne trouvent pas de lien entre la taille de l'hôte et celle du parasitoïde (Milonas 2005). De plus, Sequeira et Mackauer (1994) montrent que les performances des larves de parasitoïdes sont principalement influencées par le stade de développement larvaire de leur hôte et non par leur taille. Toutefois, lors de nos expérimentations, les pucerons sont tous testés au même stade. Ainsi, des différences nutritives ou physiologiques autres que le poids et le stade de développement des pucerons sont supposées être impliquées dans le développement des parasitoïdes ayant servi à nos expérimentations.

7.2.4. Etude des préférences des parasitoïdes

Contrairement à l'hypothèse d'attraction des parasitoïdes pour les composés spécifiques des plantes telles que *B. nigra* (page 18), le taux de parasitisme de *Br. brassicae* par *D. rapae* est

plus élevé sur les plantes cibles entourées par les plantes voisines *B. napus* (Figure 7). De plus, les données récoltées sur le terrain semblent concordées aux expérimentations effectuées en laboratoire sur le comportement de choix du parasitoïde. Cette étude est la première, à notre connaissance, à montrer que le phénomène de résistance par association peut avoir lieu par attraction des parasitoïdes pour des plantes voisines. Une attraction des parasitoïdes pour les plantes voisines conduirait à un taux de parasitisme plus élevé sur la plante cible. De plus, ce parasitoïde semble préférer les plantes voisines saines aux plantes déjà infestées. Dans notre cas, la non-attraction pour les plantes voisines infestées *B. nigra* pourrait être due à une absence d'apprentissage des odeurs de cette plante infestée par les parasitoïdes (en laboratoire) ou à des odeurs abondantes de dégâts produites par des phytophages non-hôtes (sur le terrain).

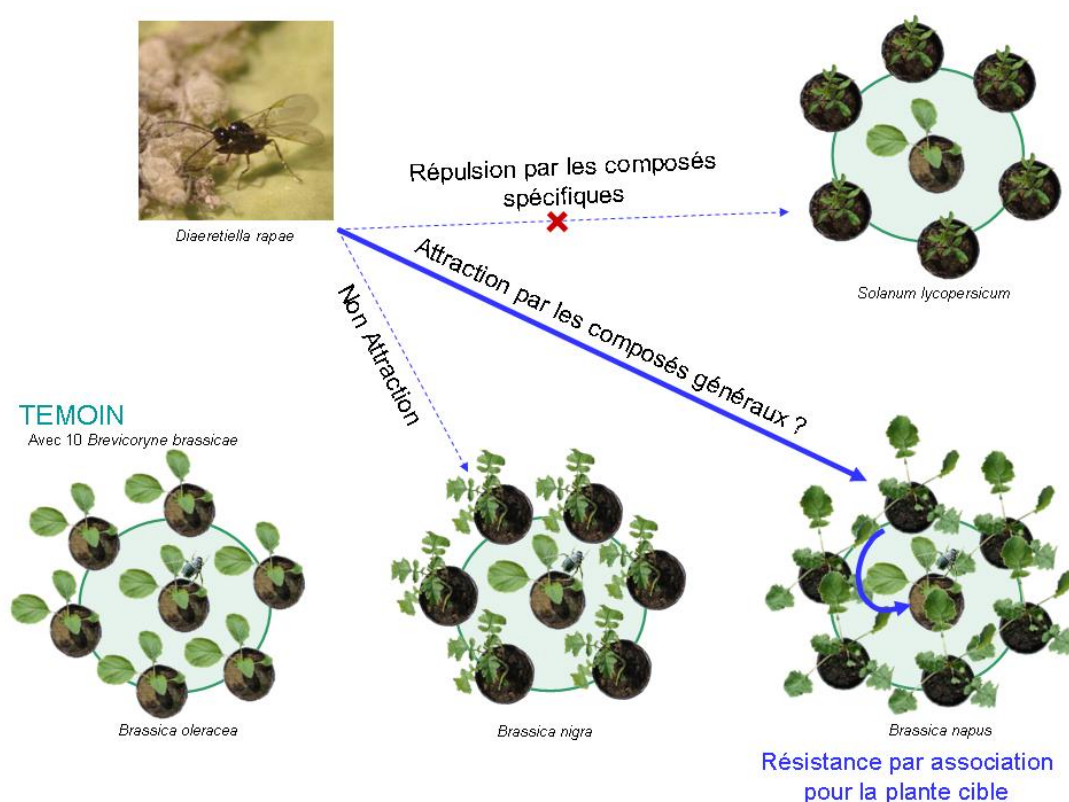


Figure 7 : Résultat : les plantes cibles peuvent, dans certains cas, bénéficier de l'attraction des parasitoïdes par les plantes voisines. Par exemple, les parasitoïdes *D. rapae* semblent attirés par les plantes telles que *B. napus* conduisant au phénomène de résistance par association pour la plante cible.

7.2.5. Lien entre les performances et les préférences des parasitoïdes Les préférences du parasitoïde *D. rapae* sont en lien avec ses performances dans le cas de *B. oleracea* et de *B. napus*. *D. rapae* a un développement réduit quand *Br. brassicae* se nourrit sur *B. oleracea* et

le taux de parasitisme est faible sur le terrain. De même, *D. rapae* possède un développement accru quand *M. persicae* se nourrit sur *B. napus* et le taux de parasitisme est important sur le terrain. Néanmoins, ce parasitoïde possède des performances accrues sur *Br. brassicae* se développant sur *B. nigra*, alors qu'il n'est pas attiré sur le terrain ou en laboratoire pour ces plantes saines et infestées. Etant donné que certains auteurs montrent une attraction de *D. rapae* pour *B. nigra* (Pope et al. 2008), nous pouvons supposer que nous n'avons sans doute pas réussi à mettre en évidence cette attraction.

7.3. La régulation des populations de phytophages *via* les effets « Bottom Up » et « Top Down » abordée sous l'angle des plantes

Le taux de croissance des populations de phytophages peut être régulé parce que les plantes hôtes présentent des caractéristiques qui limitent le développement des phytophages (effet « Bottom Up »), et par des effets liés aux ennemis naturels (effet « Top Down »), mesurée au travers de la taille des parasitoïdes et du taux de parasitisme. Par ailleurs, l'effet « Bottom Up » peut renforcer directement, *via* l'attraction des parasitoïdes, et indirectement, *via* leurs performances sur les phytophages, l'effet « Top Down ». Nous allons voir que selon les espèces de plantes, l'importance de chaque effet (Top Down vs. Bottom Up) peut donc être différente.

Par rapport aux autres espèces de plantes, la régulation des populations de phytophages par *B. oleracea* semble se faire principalement par l'effet « Bottom Up ». En effet, les performances du phytophage spécialiste *Br. brassicae* sont réduites sur cette espèce. De plus, elle n'attire pas ces phytophages (Figure 8). Etant donné que les performances du parasitoïde sont également réduites et qu'ils ne sont pas attirés, l'effet « Top Down » de ces plantes est supposé être faible. A l'inverse, la régulation des populations de phytophages chez *B. nigra* semble se faire principalement par l'effet « Top Down ». En effet, les performances des phytophages généralistes et spécialistes ne sont pas réduites sur *B. nigra* (pas d'effet Bottom Up), toutefois les parasitoïdes sont fortement attirés par *B. nigra* (Pope *et al.*, 2008) et les performances de ces parasitoïdes sont également accrues sur cette espèce. L'effet « Top Down » serait donc important chez cette espèce de plante. La régulation des populations de phytophages par *S. arvensis* semble également se faire principalement par l'effet « Top Down ». En effet, la taille des parasitoïdes est augmentée sur *S. arvensis*. De plus, une structuration génétique faible des parasitoïdes sur *S. arvensis* semble avoir été mise en évidence même si elle reste à vérifier, créant ainsi une relation 'préférentielle' entre les

parasitoïdes *D. rapae* et l'espèce de plante *S. arvensis*. L'effet « Top Down » serait donc dominant. Toutefois, nous n'avons pas testé l'attraction des phytophages et des parasitoïdes pour cette espèce de plantes. Enfin, la régulation des populations de phytophages par *B. napus* semble se faire par l'effet « Bottom Up » et l'effet « Top Down » conjugués. Les performances des phytophages généralistes étant réduites sur cette espèce, la régulation des populations de phytophages se fait par les plantes (effet « Bottom Up »). Par ailleurs, l'attraction des parasitoïdes pour *B. napus*, qui augmentent leurs performances, augmente l'effet « Top Down ». Cette espèce de plante semble être la seule à bénéficier à la fois d'une protection contre les phytophages généralistes par effet « Bottom Up » et par effet « Top Down ».

Etonnamment, nos deux espèces de plantes cultivées semblent principalement réguler les populations de phytophages par effet « Bottom Up », tandis que nos deux espèces sauvages réguleraient les populations de phytophages par effet « Top Down ».

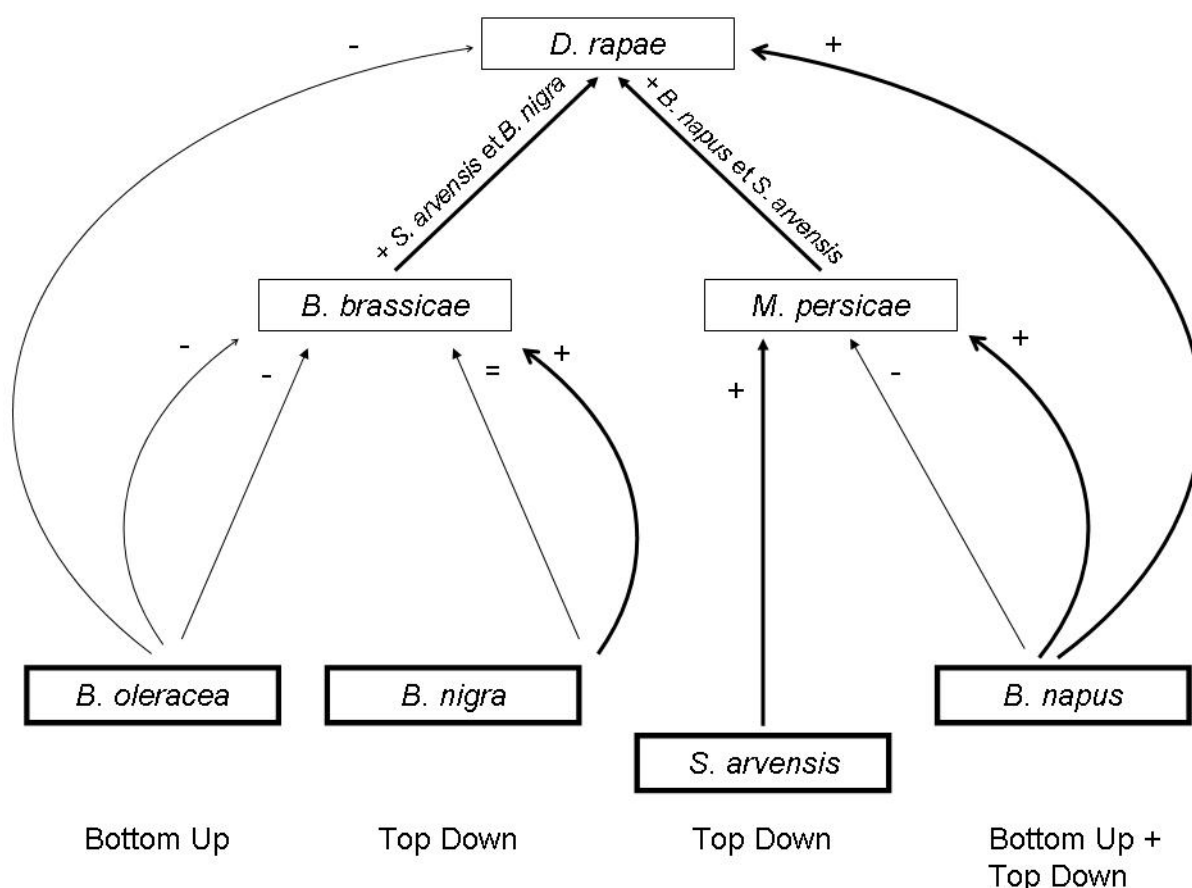


Figure 8 : Synthèse des principales interactions issues de cette thèse entre plantes, phytophages et parasitoïdes. Ce schéma permet de voir si les plantes se défendent principalement par effet « Top Down » ou « Bottom Up ». Les traits droits représentent les performances tandis que les traits courbés représentent les préférences comportementales de ces organismes ; les 'plus' représentent des performances ou des préférences accrues à

l'inverse des 'moins', les signes 'égaux' représentent des performances équivalentes. Sinapis arvensis est placé en décalé par rapport aux autres espèces de plantes étant donné que nous n'avons pas testé son influence sur le comportement des phytophages et des parasitoïdes. Au vu de leurs performances, nous pouvons supposer une attraction aussi bien des phytophages que des parasitoïdes pour S. arvensis.

D'une manière générale, les études portant sur le fonctionnement des réseaux trophiques s'accordent sur l'importance des effets « Top Down » ou des effets « Bottom Up ». Cette thèse montre que l'étude des effets « Top Down » et « Bottom Up » ne peuvent pas être dissociés lors de l'étude des interactions entre plantes et phytophages, et que les différences de méthodes de défenses entre plantes hôtes (Top Down vs. Bottom Up), ne peuvent être mise en évidence qu'en considérant différentes espèces de plantes.

7.4. Perspectives

7.4.1. Impact de la présence de phytophages sur la plante cible sur le comportement et le développement des phytophages et des ennemis naturels

Les différences entre espèces de plantes jouent un rôle important dans la réponse des organismes de niveaux trophiques supérieurs. Néanmoins, la réponse des organismes peut également varier en fonction de la qualité infestée ou saine de la plante. Ainsi, certains phytophages ne vont pas être attirés par les plantes si ces dernières ont déjà été attaquées par d'autres phytophages. Par exemple, Soler *et al.* (2009) montrent que le phytophage spécialiste *Br. brassicae* n'est pas attiré par *B. nigra* préalablement infesté par *Delia radicum* et choisira préférentiellement les plantes saines. De plus, les performances du phytophage généraliste *Mamestra brassicae* et du phytophage spécialiste *Plutella xylostella* sont réduites lorsque les plantes ont déjà été attaquées par un autre phytophage *Pieris rapae* (Poelman *et al.*, 2008a). Ainsi, la présence d'autres phytophages peut influencer les caractéristiques des Brassicacées qui à leur tour vont agir sur les préférences et les performances des phytophages « à venir ». Les caractéristiques saines ou infestées des plantes pourraient donc avoir un impact sur la croissance des populations de phytophages (effet Bottom Up).

Outre l'impact de la qualité saine ou infestée des plantes sur la croissance des populations, les caractéristiques des plantes saines varient également au cours du temps (Gols *et al.* 2008) influençant la réponse des phytophages au cours de l'année. Étant donné que beaucoup d'études ont montré un impact des défenses induites sur le choix et les performances des phytophages, il est donc important que les études futures tiennent compte de la qualité (saine ou infestée) et de la période de l'année sur l'étude des effets « Bottom Up ».

Le nombre d'espèces de phytophages présents sur une plante hôte peut influencer l'attraction des ennemis naturels. En effet, certains prédateurs ne vont pas être attirés par les plantes attaquées si celles-ci sont attaquées de manière simultanée par deux espèces de phytophages. L'étude de Shiojiri et al. (2001) montre que *Cotesia plutellae* théoriquement attiré par *Plutella xylostella* est moins attiré par ce dernier lorsque *Pieris rapae* est également présent. Le taux de parasitisme de *Plutella xylostella* en présence de *Pieris rapae* est donc réduit et cette espèce préfère pondre sur les plantes déjà attaquées par *P. rapae*. Ainsi, outre les caractéristiques individuelles des plantes, la présence d'une autre espèce de phytophage peut également influencer l'impact exercé par les parasitoïdes sur les populations de phytophage (effet « Top Down »). Les études futures devraient donc tenir compte de l'impact de la présence simultanée de phytophages sur le taux de prédation et de parasitisme de ces derniers.

7.4.2. Impact de l'habitat d'origine des parasitoïdes (cultivé ou sauvage) sur la dynamique des populations de parasitoïdes dans les agroécosystèmes, et sur l'effet « Top Down »

Les agroécosystèmes sont composés de plantes cultivées et de plantes non cultivées. Lors de la recherche d'hôtes, les parasitoïdes sont donc potentiellement confrontés à des environnements présentant des caractéristiques différentes. Van Nouhuys et Via (1999) montrent que le comportement des parasitoïdes *Cotesia glomerata* est dépendant de leur habitat d'origine (cultivées vs. non cultivées). En réalisant des expériences de transplantation réciproque entre les parasitoïdes collectés dans des habitats cultivées et les parasitoïdes collectés dans des habitats sauvages, ces auteurs ont montré que les parasitoïdes issus de l'environnement « cultivé » passaient plus de temps en recherche sur la plante et donc rencontraient plus d'hôtes que les parasitoïdes issus de l'environnement « sauvage ». Ainsi, il semblerait que le comportement des parasitoïdes varie en fonction de leur habitat d'origine. Cela pourrait s'expliquer par une qualité et une architecture différente des espèces de plantes, ou par la présence d'hôtes différents (espèces, comportement...). Ainsi, même si notre étude a montré que des échanges étaient possible entre le compartiment cultivé et sauvage, les études futures devraient intégrer l'habitat d'origine des phytophages et des ennemis naturels lors de l'étude de leurs comportements.

Plusieurs autres études montrent que les parasitoïdes tels que *Diaeretiella rapae* (Vaughn et al., 1996; Sheehan et Shelton, 1989) acquièrent une expérience vis-à-vis du complexe plante-hôtes à leur émergence sur la plante. Cette expérience post-émergence influence leurs choix

futurs pour les plantes et les attirent vers leurs plantes d'origine. Ainsi, si les parasitoïdes expriment une certaine « fidélité » à leurs espèces de plantes hôtes et que leurs comportements d'exploitation diffèrent, il est possible que cela entraîne une structuration génétique des populations en fonction du caractère cultivé ou non des plantes, même si cela n'a encore jamais été démontré. Dans notre cas, certains parasitoïdes semblent attirer préférentiellement par les plantes cultivées telles que *B. napus* et pourraient effectuer leur cycle principal sur cette espèce, en passant seulement au moment de la récolte du colza sur les espèces de Brassicacées voisines potentiellement sauvages. Avec le temps, cela pourrait entraîner la création de populations génétiquement différentes. Au contraire, on suppose que d'autres populations de parasitoïdes pourraient être attirées par les plantes sauvages telles que *S. arvensis*, entrer en diapause sous forme de momies à la période hivernale et donc se développer uniquement sur cette plante. Ce comportement pourrait entraîner une structuration génétique des populations de parasitoïdes *D. rapae* sur *S. arvensis* ainsi qu'une structuration des populations de *D. rapae* sur *B. napus*, cependant de telles structurations n'ont été mises en évidence au cours des analyses génétiques.

D'un point de vue appliqué, les plantes sauvages telles que *B. nigra* en attirant les phytophages spécialistes et les parasitoïdes (d'après la bibliographie) constituent à la fois un réservoir de ravageurs et un refuge d'ennemis naturels. Néanmoins, ces plantes possèdent également l'avantage de repousser les phytophages généralistes. Ces plantes seraient donc efficaces près de cultures ne craignant pas l'attaque des phytophages spécialistes, ce qui peut sembler assez rare.

Concernant les plantes cultivées, on suppose que les champs de colza *B. napus* profiteraient des défenses indirectes procurées par l'attraction des ennemis naturels pour lutter contre les phytophages. De même, les plants de choux ne seraient pas susceptibles aux populations de phytophages spécialistes, mais pourraient bénéficier de la présence de *B. nigra* pour lutter contre les phytophages généralistes. Toutefois, cela pourrait augmenter le risque de colonisation par les phytophages spécialistes.

Les études que nous avons menées durant cette thèse portent sur deux espèces de plantes cultivées et deux espèces sauvages. Afin de pouvoir généraliser aux plantes cultivées et aux plantes sauvages les résultats que nous avons obtenus avec ces quatre espèces de plantes, il est nécessaire que les études futures prennent en compte un plus grand nombre d'espèces de plantes.

Bibliographie

(Hors références citées dans les articles)

Bibliographie

A

- Agbogba BC, Powell W, 2007. Effect of the presence of a nonhost herbivore on the response of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to host-infested cabbage plants. *Journal of Chemical Ecology* 33:2229-2235.
- Agrawal AA, 1999. Induced responses to herbivory in wild radish: effects on several herbivores and plant fitness. *Ecology* 80:1713-1723.
- Agrawal AA, 2000. Specificity of induced resistance in wild radish: causes and consequences for two specialist and two generalist caterpillars. *Oikos* 89:493-500.
- Agrawal AA, Janssen A, Bruin J, Posthumus MA, Sabelis MW, 2002. An ecological cost of plant defence : attractiveness of bitter cucumber plants to natural enemies of herbivores. *Ecology letters* 5:377-385.
- Agrawal AA, Kurashige NS, 2003. A role for isothiocyanates in plant resistance against the specialist herbivore *Pieris rapae*. *Journal of Chemical Ecology* 29:1403-1415.
- Agrawal AA, Sherriffs MF, 2001. Induced plant resistance and susceptibility to late-season herbivores of wild radish. *Annals of the Entomological Society of America* 94:71-75.
- Aliabadi A, Renwick A, Whitman DW, 2002. Sequestration of glucosinolates by harlequin bug *Murgantia histrionica*. *Journal of Chemical Ecology* 28:1749-1762.
- Atsatt PR, Odowd DJ, 1976. Plant Defense Guilds. *Science* 193:24-29.

B

- Barari H, Cook SM, Clark SJ, Williams IH, 2005. Effect of a turnip rape (*Brassica rapa*) trap crop on stem-mining pests and their parasitoids in winter oilseed rape (*Brassica napus*). *Biocontrol* 50:69-86.
- Barbosa P, Gross P, Kemper J, 1991. Influence of plant allelochemicals on the tobacco hornworm and its parasitoid, *Cotesia congregata*. *Ecology* 72:1567-1575.
- Barbosa P, Hines J, Kaplan I, Martinson H, Szczepaniec A, Szendrei Z, 2009. Associational resistance and associational susceptibility: having right or wrong neighbors. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 40:1-20.
- Barker JE, Poppy GM, Payne CC, 2007. Suitability of *Arabidopsis thaliana* as a model for host plant-*Plutella xylostella*-*Cotesia plutellae* interactions. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 122:17-26.
- Barth C, Jander G, 2006. *Arabidopsis* myrosinases TGG1 and TGG2 have redundant function in glucosinolate breakdown and insect defense. *The Plant Journal* 46:549-562.

- Bellostas N, Sorensen H, Sorensen JC, 2004. Qualitative and quantitative evaluation in cruciferous plants during their life cycles. *Agroindustria* 3:5-10.
- Bennett RN, Wallsgrave RM, 1994. Secondary metabolites in plant defence mechanisms. *New Phytologist* 127:617-633.
- Benrey B, Denno RF, 1997. The slow growth high mortality hypothesis: a test using the cabbage butterfly. *Ecology* 78:987-999.
- Berryman A, 2002. Population cycles : the case for trophic interactions. Oxford, UK: Oxford university press.
- Birch ANE, Griffiths DW, Hopkins RJ, Smith WHM, McKinlay RG, 1992. Glucosinolate responses of swede, kale, forage and oilseed rape to root damage by turnip root fly (*Delia floralis*) larvae. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 60:1-9.
- Blackman Roger L. et Eastop Victor F., 2006. Aphids on the World's Herbaceous Plants and Shrubs, 2 Volume Set, Wiley, 1460 pages
- Blande JD, 2004. Differential signalling from specialist and generalist *Brassica* feeding aphids to differentially adapted aphid parasitoids. Southampton: University of Southampton.
- Blande JD, Pickett JA, Poppy GM, 2007. A comparison of semiochemically mediated Interactions involving specialist and generalist *Brassica*-feeding aphids and the braconid parasitoid *Diaeretiella rapae*. *Journal of Chemical Ecology* 33:767-779.
- Blight MM, Smart LE, 1999. Influence of visual cues and isothiocyanate lures on capture of the pollen beetle, *Meligethes aeneus* in field traps. *Journal of Chemical Ecology* 25:1501-1516.
- Bradburne RP, Mithen R, 2000. Glucosinolate genetics and the attraction of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to Brassica. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 267:89-95.
- Bridges M, Jones AME, Bones AM, Hodgson C, Cole R, Bartlett E, Wallsgrave R, Karapapa V, Watts N, Rossiter JT, 2002. Spatial organization of the glucosinolate-myrosinase system in Brassica specialist aphids is similar to that of the host plant. *Proceedings of the Royal Society B* 269:187-192.
- Bukovinszky T, Gols R, Hemerik L, van Lenteren JC, Vet LEM, 2007. Time allocation of a parasitoid foraging in heterogeneous vegetation: implications for host-parasitoid interactions. *Journal of Animal Ecology* 76:845-853.
- Bukovinszky T, Gols R, Posthumus MA, Vet LEM, van Lenteren JC, 2005. Variation in plant volatiles and attraction of the parasitoid *Diadegma semiclausum* (Hellen). *Journal of Chemical Ecology* 31:461-480.
- Bukovinszky T, Poelman EH, Gols R, Prekatsakis G, Vet LEM, Harvey JA, Dicke M, 2009. Consequences of constitutive and induced variation in plant nutritional quality for immune defence of a herbivore against parasitism. *Oecologia* 160:299-308.

Bukovinszky T, van Veen FJF, Jongema Y, Dicke M, 2008. Direct and indirect effects of resource quality on food web structure. *Science* 319:804-807.

C

Cole RA, 1997. The relative importance of glucosinolates and amino acids to the development of two aphid pests *Brevicoryne brassicae* and *Myzus persicae* on wild and cultivated Brassica species. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 85:121-133.

D

Desneux N, Barta RJ, Hoelmer KA, Hopper KR, Heimpel GE, 2009. Multifaceted determinants of host specificity in an aphid parasitoid. *Oecologia* 160:387-398.

Dicke M, 2009. Behavioural and community ecology of plants that cry for help. *Plant Cell and Environment* 32:654-665.

F

Fahey JW, Zalcmann AT, Talalay P, 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry* 56:5-51.

Fenton B, Woodford JAT, Malloch G, 1998. Analysis of clonal diversity of the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Sulzer), in Scotland, UK and evidence for the existence of a predominant clone. *Molecular Ecology* 7:1475-1487.

Fieldsend J, Milford GFJ, 1994. Changes in glucosinolates during crop development in single-low and double-low genotypes of winter oilseed rape (*Brassica napus*) .2. profiles and tissue-water concentrations in vegetative tissues and developing pods. *Annals of Applied Biology* 124:543-555.

Figuerola CC, Simon JC, Le Gallic JF, Prunier-Leterme N, Briones LM, Dedryver CA, Niemeyer HM, 2004. Effect of host defense chemicals on clonal distribution and performance of different genotypes of the cereal aphid *Sitobion avenae*. *Journal of Chemical Ecology* 30:2515-2525.

Fordyce JA, 2001. The lethal plant defense paradox remains : inducible host-plant aristolochic acids and the growth and defense of the pipevine swallowtail. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 100:339-346.

Francis F, Haubruge E, Gaspar C, 2000. Influence of host plants on specialist / generalist aphids and on the development of *Adalia bipunctata* (Coleoptera: Coccinellidae). *European Journal of Entomology* 97:481-485.

Francis F, Lognay G, Wathélet JP, Haubruge E, 2001. Effects of allelochemicals from first (Brassicaceae) and second (*Myzus persicae* and *Brevicoryne brassicae*) trophic levels on *Adalia bipunctata*. *Journal of Chemical Ecology* 27:243-255.

Francis F, Vanhaelen N, Haubruge E, 2005. Glutathione S-transferases in the adaptation to plant secondary metabolites in the *Myzus persicae* aphid. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 58:166-174.

G

- Gabrys B, Tjallingii WF, 2002. The role of sinigrin in host plant recognition by aphids during initial plant penetration. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 104:89-93.
- Giamoustaris A, Mithen R, 1995. The effect of modifying the glucosinolate content of leaves of oilseed Rape (*Brassica napus* Ssp *Oleifera*) on its interaction with specialist and generalist pests. *Annals of Applied Biology* 126:347-363.
- Girling RD, Hassall M, Turner JG, Poppy GM, 2006. Behavioural responses of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* to volatiles from *Arabidopsis thaliana* induced by *Myzus persicae*. *Entomological Experimentalis et Applicata* 120:1-9.
- Godfray HCJ, 1994. Parasitoids, behaviour and evolutionary ecology: Princeton University Press, Princeton, New Jersey.
- Gols R, Bukovinszky T, Hemerik L, Harvey JA, Van Lenteren JC, Vet LEM, 2005. Reduced foraging efficiency of a parasitoid under habitat complexity: implications for population stability and species coexistence. *Journal of Animal Ecology* 74:1059-1068.
- Gols R, Bukovinszky T, van Dam NM, Dicke M, Bullock JM, Harvey JA, 2008. Performance of generalist and specialist herbivores and their endoparasitoids differs on cultivated and wild brassica populations. *Journal of Chemical Ecology* 34:132-143.
- Gols R, Harvey JA, 2009. Plant-mediated effects in the Brassicaceae on the performance and behaviour of parasitoids. *Phytochemistry Reviews* 8:187-206.
- Gols R, Raaijmakers CE, van Dam NM, Dicke M, Bukovinszky T, Harvey JA, 2007. Temporal changes affect plant chemistry and tritrophic interactions. *Basic and Applied Ecology* 8:421-433.
- Gouinguene SPD, Stadler E, 2006. Comparison of the egg-laying behaviour and electrophysiological responses of *Delia radicum* and *Delia floralis* to cabbage leaf compounds. *Physiological entomology* 31:382-389.
- Gripenberg S, Mayhew PJ, Parnell M, Roslin T, 2010. A meta-analysis of preference-performance relationships in phytophagous insects. *Ecology Letters* 13:383-393.

H

- Hackermann J, Rott AS, Dorn S, 2007. How two different host species influence the performance of a gregarious parasitoid: host size is not equal to host quality. *Journal of Animal Ecology* 76:376-383.
- Hairston NG, Smith FE, Slobodkin LB, 1960. Community structure, population control, and competition. *The american naturalist* 94:421-425.
- Halaj J, Wise DH, 2001. Terrestrial trophic cascades: How much do they trickle? *American Naturalist* 157:262-281.

Harvey JA, van Dam NM, Gols R, 2003. Interactions over four trophic levels: foodplant quality affects development of a hyperparasitoid as mediated through a herbivore and its primary parasitoid. *Journal of Animal Ecology* 72:520-531.

Harvey JA, Van Nouhuys S, Biere A, 2005. Effects of quantitative variation in allelochemicals in *Plantago lanceolata* on development of a generalist and a specialist herbivore and their endoparasitoids. *Journal of Chemical Ecology* 31:287-302.

Harvey JA, 2005. Factors affecting the evolution of development strategies in parasitoid wasps: the importance of functional constraints and incorporating complexity. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 117:1-13

Hokkanen H, Granlund H, Husberg GB, Markkula M, 1986. Trap crops used successfully to control *Meligethes aeneus* (Col, Nitidulidae), the rape blossom beetle. *Annales Entomologici Fennici* 52:115-120.

Hopkins RJ, Ekbom B, Henkow L, 1998. Glucosinolate content and susceptibility for insect attack of three populations of *Sinapis alba*. *Journal of Chemical Ecology* 24:1203-1215.

J

Jones AME, Winge P, Bones AM, Cole R, Rossiter JT, 2002. Characterization and evolution of a myrosinase from the cabbage aphid *Brevicoryne brassicae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32:275-284.

K

Karowe DN, Schoonhoven LM, 1992. Interactions among 3 trophic levels - the influence of host plant on performance of *Pieris brassicae* and its parasitoid, *Cotesia glomerata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 62:241-251.

Kasprowicz L, Malloch G, Pickup J, Fenton B, 2008. Spatial and temporal dynamics of *Myzus persicae* clones in fields and suction traps. *Agricultural and Forest Entomology* 10:91-100.

Kazana E, Pope TW, Tibbles L, Bridges M, Pickett JA, Bones AM, Powell G, Rossiter JT, 2007. The cabbage aphid: a walking mustard oil bomb. *Proceedings of the royal society B* 274:2271-2277.

Kim JH, Jander G, 2007. *Myzus persicae* (green peach aphid) feeding on *Arabidopsis* induces the formation of a deterrent indole glucosinolate. *The Plant Journal* 49:1008-1019.

Kissen R, Rossiter JT, Bones AM, 2009. The 'mustard oil bomb': not so easy to assemble?! Localization, expression and distribution of the components of the myrosinase enzyme system. *Phytochemistry Reviews* 8:69-86.

Kusnierczyk A, Winge P, Midelfart H, Armbruster WS, Rossiter JT, Magnar Bones A, 2007. Transcriptional responses of *Arabidopsis thaliana* ecotypes with different glucosinolate profiles after attack by polyphagous *Myzus persicae* and oligophagous *Brevicoryne brassicae*. *Journal of Experimental Botany* 58:2537-2552.

L

Lampert EC, Bowers MD, 2010. Host plant species affects the quality of the generalist *Trichoplusia ni* as a host for the polyembryonic parasitoid *Copidosoma floridanum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 134:287-295.

Li Q, Eigenbrode SD, Stringam GR, Thiagarajah MR, 2000. Feeding and growth of *Plutella xylostella* and *Spodoptera eridania* on *Brassica juncea* with varying glucosinolate concentrations and myrosinase activities. *Journal of Chemical Ecology* 26:2401-2419.

M

Mattiacci L, Dicke M, Posthumus MA, 1994. Induction of Parasitoid Attracting Synomone in Brussels-Sprouts Plants by Feeding of *Pieris brassicae* Larvae - Role of Mechanical Damage and Herbivore Elicitor. *Journal of Chemical Ecology* 20:2229-2247.

Medeiros L, Moreira GRP, 2005. Larval feeding behavior of *Gratiana spadicea* (Klug) (Coleoptera : chrysomelidae : cassidinae) on its host plant, *Solanum sisymbriifolium* Lamarck (Solanaceae): Interaction with trichomes. *Coleopterists Bulletin* 59:339-350.

Merritt SZ, 1996. Within-plant variation in concentrations of amino acids, sugar, and sinigrin in phloem sap of black mustard, *Brassica nigra* (L) Koch (Cruciferae). *Journal of Chemical Ecology* 22:1133-1145.

Mewis I, Appel HM, Hom A, Raina R, Schultz JC, 2005. Major signaling pathways modulate Arabidopsis glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing Insects. *Plant Physiology* 138:1149-1162.

Milonas PG, 2005. Influence of initial egg density and host size on the development of the gregarious parasitoid *Bracon hebetor* on three different host species. *Biocontrol* 50:415-428.

Mithen R, Raybould AF, Giamoustaris A, 1995. Divergent selection for secondary metabolites between wild populations of *Brassica oleracea* and its implications for plant-herbivore interactions. *Heredity* 75:472-484.

Muller C, Agerbirk N, Olsen CE, Boeve JL, Schaffner U, Brakefield PM, 2001. Sequestration of host plant glucosinolates in the defensive hemolymph of the sawfly *Athalia rosae*. *Journal of Chemical Ecology* 27:2505-2516.

Muller C, Arand K, 2007. Trade-offs in oviposition choice ? Food-dependent performance and defence against predators of a herbivorous sawfly. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 124:153-159.

Muller C, Sieling N, 2006. Effects of glucosinolate and myrosinase levels in *Brassica juncea* on a glucosinolate-sequestering herbivore - and vice versa. *Chemoecology* 16:191-201.

Muller C, Wittstock U, 2005. Uptake and turn-over of glucosinolates sequestered in the sawfly *Athalia rosae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 35:1189-1198.

Muller C, Zwaan BJ, de Vos H, Brakefield PM, 2003. Chemical defense in a sawfly: genetic components of variation in relevant life-history traits. *Heredity* 90:468-475.

N

Nault LR, Styer WE, 1972. Effects of sinigrin on host selection by aphids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 15:423-437.

Newton E, Bullock JM, Hodgson D, 2009. Bottom-up effects of glucosinolate variation on aphid colony dynamics in wild cabbage populations. *Ecological Entomology* 34:614-623.

Nieto DJ, Shennan C, Settle WH, O'Malley R, Bros S, Honda JY, 2006. How natural enemies and cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.) population dynamics affect organic broccoli harvest. *Environmental Entomology* 35:94-101.

Nottingham SF, Hardie J, Dawson GW, Hick AJ, Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM, 1991. Behavioral and Electrophysiological Responses of Aphids to Host and Nonhost Plant Volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 17:1231-1242.

P

Petermann JS, Muller CB, Roscher C, Weigelt A, Weisser WW, Schmid B, 2010. Plant species loss affects life-history traits of aphids and their parasitoids. *Plos One* 5:1-9.

Pettersson J, 1973. Olfactory reactions of *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hom.:Aph.). *Swedish journal of agriculture Research* 3:95-103.

Pettersson J, 1979. Aphids and host plant communication. *Symb. Bot. Upsal.* 4:107-113.

Pickett JA, Wadhams LJ, Woodcock CM, Hardie J, 1992. The chemical ecology of aphids. *Annual Review of Entomology* 37:67-90.

Pike KS, Stary P, Miller T, Allison D, Graf G, Boydston L, Miller R, Gillespie R, 1999. Host range and habitats of the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae) in washington state. *Environmental Entomology* 28:61-71.

Poelman EH, Broekgaarden C, Van Loon JJA, Dicke M, 2008a. Early season herbivore differentially affects plant defence responses to subsequently colonizing herbivores and their abundance in the field. *Molecular Ecology* 17:3352-3365.

Poelman EH, Galiart RJFH, Raaijmakers CE, van Loon JJA, van Dam NM, 2008b. Performance of specialist and generalist herbivores feeding on cabbage cultivars is not explained by glucosinolate profiles. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 127:218-228

Poelman EH, van Loon JJA, Dicke M, 2008c. Consequences of variation in plant defense for biodiversity at higher trophic levels. *Trends in plant science* 13:534-541.

Pontoppidan B, Ekbom B, Eriksson S, Meijer J, 2001. Purification and characterization of myrosinase from the cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae*), a brassica herbivore. *European Journal of Biochemistry* 268:1041-1048.

Pope TW, Kissen R, Grant M, Pickett JA, Rossiter JT, Powell G, 2008. Comparative Innate Responses of the Aphid Parasitoid *Diaeretiella rapae* to Alkenyl Glucosinolate Derived Isothiocyanates, Nitriles, and Epithionitriles. *Journal of Chemical Ecology* 34:1302-1310.

Porter AJR, Morton AM, Kiddle G, Doughty KJ, Wallsgrove R, 1991. Variation in the glucosinolate content of oilseed rape (*Brassica napus* L.) leaves. 1. effect of leaf age and position. *Annals of Applied Biology* 118:461-467.

R

Ramsey JS, Rider DS, Walsh TK, De Vos M, Gordon KHJ, Ponnala L, Macmil SL, Roe BA, Jander G, 2010. Comparative analysis of detoxification enzymes in *Acyrtosiphon pisum* and *Myzus persicae*. *Insect Molecular Biology* 19:155-164.

Rask L, Andreasson E, Ekblom B, Eriksson S, Pontoppidan B, Meijer J, 2000. Myrosinase: gene family evolution and herbivore defense in Brassicaceae. *Plant Molecular Biology* 42:93-113.

Ratzka A, Vogel H, Kliebenstein DJ, Mitchell-olds T, Kroymann J, 2002. Disarming the mustard oil bomb. *PNAS* 99:11223-11228.

Read DP, Feeny PP, Root RB, 1970. Habitat selection by the aphid parasite *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Braconidae) and hyperparasite *Charips brassicae* (Hymenoptera: cynipidae). *The Canadian Entomologist* 102:1567-1578.

Reed HC, Tan SH, Haapanen K, Killmon M, Reed DK, Eklliott NC, 1995. Olfactory responses of the parasitoid *Diaeretiella rapae* (hymenoptera: Aphidiidae) to odor of plants, aphids, and plant-aphid complexes. *Journal of Chemical Ecology* 21:407-418.

S

Sequeira R, Mackauer M, 1994. Variation in Selected Life-History Parameters of the Parasitoid Wasp, *Aphidius-Ervi* - Influence of Host Developmental Stage. *Entomologia Experimentalis Et Applicata* 71:15-22.

Sheehan W, Shelton AM, 1989. The role of experience in plant foraging by the aphid parasitoid *Diaeretiella rapae* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Journal of Insect Behavior* 2:743-759.

Shelton AM, Nault BA, 2004. Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Plutellidae). *Crop Protection* 23:497-503.

Shiojiri K, Takabayashi J, Yano S, Takafuji A, 2001. Infochemically mediated tritrophic interaction webs on cabbage plants. *Population Ecology* 43:23-29.

Shiojiri K, Takabayashi J, Yano S, Takafuji A, 2002. Oviposition preferences of herbivores are affected by tritrophic interaction webs. *Ecology Letters* 5:186-192.

Soler R, Schaper SV, Bezemer TM, Cortesero AM, Hoffmeister TS, Van der Putten WH, Vet LEM, Harvey JA, 2009. Influence of presence and spatial arrangement of belowground insects on host-plant selection of aboveground insects: a field study. *Ecological Entomology* 34:339-345.

Stadler E, 1978. Chemoreception of host plant-chemicals by ovipositing females of *Delia (Hylemya) brassicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 24:711-720.

Stiling P, Rossi AM, Cattell MV, 2003. Associational resistance mediated by natural enemies. *Ecological Entomology* 28:587-592.

Sznajder B, Harvey JA, 2003. Second and third trophic level effects of differences in plant species reflect dietary specialisation of herbivores and their endoparasitoids. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 109:73-82.

T

Tahvanainen JO, Root RB, 1972. The influence of vegetational diversity on the population ecology of a specialized herbivore, *Phyllotreta cruciferae* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Oecologia* 10:321-346.

Titayavan M, Altieri MA, 1990. Synomone-mediated interactions between the parasitoid *Diaeretiella rapae* and *Brevicoryne brassicae* under field conditions. *Entomophaga* 35:499-507.

Toneatto F, Nielsen JK, Orgaard M, Hauser TP, 2010. Genetic and sexual separation between insect resistant and susceptible *Barbarea vulgaris* plants in Denmark. *Molecular Ecology* 19:3456-3465.

Toth M, Csonka E, Bakcsa F, Benedek P, Szarukan I, Gomboc S, Toshova T, Subchev M, Ujvary I, 2007. Species spectrum of flea beetles (*Phyllotreta* spp., coleoptera, chrysomelidae) attracted to allyl isothiocyanate-baited traps. *Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-a Journal of Biosciences* 62:772-778.

Turlings TCJ, Loughrin JH, McCall PJ, Rose USR, Lewis WJ, Tumlinson JH, 1995. How caterpillar damaged plants protect themselves by attracting parasitic wasps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92:4169-4174.

Turlings TCJ, Tumlinson JH, Lewis WJ, 1990. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science* 250:1251-1253.

V

van Leur H, Vet LEM, van der Putten WH, van Dam NM, 2008. *Barbarea vulgaris* glucosinolate phenotypes differentially affect performance and preference of two different species of lepidopteran herbivores. *Journal of Chemical Ecology* 34:121-131.

van Nouhuys S, Via S, 1999. Natural selection and genetic differentiation of behaviour between parastoids from wild and cultivated habitats. *Heredity* 83:127-137.

Vanhaelen N, Gaspar C, Francis F, 2002. Influence of prey host plant on a generalist aphidophagous predator : *Episyrphus balteatus* (Diptera:Syrphidae). European Journal of Entomology 99:561-564.

Vaughn TT, Antolin MF, Bjostad LB, 1996. Behavioral and physiological responses of *Diaeretiella rapae* to semiochemicals. Entomologia Experimentalis et Applicata 78:187-196.

Vos M, Verschoor AM, Kooi BW, Wackers FL, DeAngelis DL, Mooij WM, 2004. Inducible defenses and trophic structure. Ecology 85:2783-2794.

W

Wearing CH, 1968. Responses of aphids to pressure applied to liquid diet behind parafilm membrane. Longevity and larviposition of *Myzus persicae* (Sulz.) and *Brevicoryne brassicae* (L.) (Homoptera:aphididae) feeding on sucrose and sinigrin solutions. New Zealand Journal of Science 11:105-121.

Winter TR, Rostas M, 2010. Nitrogen deficiency affects Bottom-Up cascade without disrupting indirect plant defense. Journal of Chemical Ecology 36:642-651.

Wittstock U, Agerbirk N, Stauber EJ, Olsen CE, Hippler M, Mitchell-Olds T, Gershenzon J, Vogel H, 2004. Successful herbivore attack due to metabolic diversion of plant chemical defense. PNAS 101:4859-4864.

Wittstock U, Kliebenstein DJ, Lambrix V, Reichelt M, Gershenzon J, 2003. Glucosinolate hydrolysis and its impact on generalist and specialist insect herbivores. Integrative Phytochemistry: From Ethnobotany to Molecular Ecology 37:101-125.

SOMMAIRE

INTRODUCTION GENERALE

p 1

Présentation du matériel biologique

p 5

Les Brassicacées

Les pucerons généralistes Myzus persicae et spécialistes Brevicoryne brassicae

Le parasitoïde Diaeretiella rapae

I – Les performances des phytophages généralistes, spécialistes et de leurs parasitoïdes varient-elles en fonction des espèces de plantes ?

p 10

II – Le comportement de choix de la plante hôte par les phytophages généralistes et spécialistes et leurs parasitoïdes peut-il être influencé par l'environnement proche des plantes ?

p 14

III – Les différences de performances et de préférences chez des phytophages généralistes et spécialistes et leurs parasitoïdes peuvent-elles entraîner une structuration génétique des populations par espèces de plantes hôtes?

p 19

CHAPITRE 1: Performances du phytophage spécialiste *Brevicoryne brassicae* et du phytophage généraliste *Myzus persicae*, et de leur parasitoïde commun *Diaeretiella rapae* sur différentes plantes hôtes

Article 1 : Mesure des performances d'un phytophage généraliste *Myzus persicae* et de son parasitoïde *Diaeretiella rapae* sur des Brassicacées sauvages et cultivées

p 21

Article soumis à *Annals of Applied Biology*

Article 2 : Impact de différentes espèces de plantes sur le développement d'un puceron spécialiste séquestrant les défenses des plantes et de son endoparasitoïde

p 43

Article publié dans *Basic and Applied Ecology*

CHAPITRE 2: Influence de la présence de plantes voisines sur la colonisation des phytophages généralistes et spécialistes et le parasitisme sur une plante cible

Article 1 : L'environnement proche des plantes de la famille des Brassicacées peut influencer la colonisation des plantes par les pucerons spécialistes et généralistes

p 63

Article en cours de révision pour *Oecologia*

Article 2 : Résistance par association pour une plante contre un puceron spécialiste *via* l'attraction des parasitoïdes pour les plantes voisines

p 83

Article en préparation pour *Oikos*

CHAPITRE 3: Structuration génétique des populations de puceron *Brevicoryne brassicae* et de parasitoïde *Diaeretiella rapae* par les plantes hôtes

p 101

Les populations du parasitoïde *Diaeretiella rapae* contrairement à celles de son hôte *Brevicoryne brassicae* sont structurées par leurs plantes hôtes, cultivées et sauvages

SYNTHESE ET PERSPECTIVES

I – Les plantes peuvent-elles réguler les populations de phytophages généralistes et spécialistes (effet Bottom Up) ? p 129

Etude des performances des phytophages généralistes

Etude des performances des phytophages spécialistes

→ Comparaison des performances des phytophages spécialistes et généralistes

Etude des préférences des phytophages spécialistes

Etude des préférences des phytophages généralistes

→ Lien entre les performances et les préférences des phytophages spécialistes et généralistes

II – Les parasitoïdes peuvent-ils réguler les populations de phytophages généralistes et spécialistes (effet Top Down) ? p 136

Etude des performances des parasitoïdes se développant aux dépens des phytophages généralistes

Etude des performances des parasitoïdes se développant aux dépens des phytophages spécialistes

→ Comparaison des performances des parasitoïdes se développant sur des phytophages spécialistes et généralistes

Etude des préférences des parasitoïdes

→ Lien entre les performances et les préférences des parasitoïdes

III – La régulation des populations de phytophages via les effets « Bottom Up » et « Top Down » abordée sous l'angle des plantes p 142

IV - Perspectives

→ Impact de la présence de phytophages sur la plante cible sur le comportement et le développement des phytophages et des ennemis naturels p 144

→ Impact de l'habitat d'origine des parasitoïdes (cultivée ou sauvage) sur la dynamique des populations de parasitoïdes dans les agroécosystèmes, et sur l'effet « Top Down »

→ Application

BIBLIOGRAPHIE

p 147

Résumé

Les plantes sont la base de réseaux trophiques plus ou moins complexes et peuvent influencer directement ou indirectement les interactions entre les organismes des niveaux trophiques supérieurs. Toutefois, l'impact des plantes sur les performances des phytophages et des ennemis naturels a surtout été abordé en prenant en compte les caractéristiques d'une seule espèce de plante hôte. Des différences entre espèces et la présence de plantes voisines peuvent également influencer les interactions entre les niveaux trophiques supérieurs. L'objectif de cette thèse est donc d'identifier i) l'impact de différentes espèces de plantes sur les performances de phytophages généralistes et spécialistes et de leurs ennemis naturels, ii) l'impact de l'environnement proche sur les préférences des phytophages et de leurs ennemis naturels, et iii) les conséquences sur la structuration génétique des populations de phytophages et d'ennemis naturels en relation avec les espèces de plantes hôtes.

Pour répondre à ces questions, nous avons choisi quatre espèces de plantes de la famille des Brassicacées, deux espèces sauvages *Brassica nigra* et *Sinapis arvensis* et deux espèces cultivées *B. oleracea* et *B. napus*. Ces espèces diffèrent par leur phénologie, leur qualité nutritive (teneur en sucres et en acides aminés), leurs défenses physiques et chimiques. Ces plantes possèdent la particularité de produire des composés secondaires, les glucosinolates, qui suite à l'attaque de phytophages, s'hydrolysent pour former des composés potentiellement toxiques pour de nombreux phytophages. Nous avons comparé le développement et le comportement du puceron généraliste *Myzus persicae* et du puceron spécialiste *Brevicoryne brassicae* et de leur parasitoïde *Diaeretiella rapae* sur les quatre espèces de plantes. Nous avons aussi caractérisé la structuration génétique des populations du puceron spécialiste *Br. brassicae* et du parasitoïde *D. rapae*.

Nous avons montré que les performances du phytophage généraliste et du parasitoïde ne sont pas réduites sur les plantes sauvages. Les performances de *M. persicae* sont en fait réduites sur l'espèce cultivée *B. napus* tandis que son parasitoïde se développe mieux sur l'espèce sauvage *S. arvensis*. Le phytophage spécialiste, au contraire, possède des performances équivalentes sur les différentes espèces de plantes. De plus, alors que ce phytophage est capable de séquestrer les composés secondaires rencontrés dans les plantes hôtes et de les utiliser pour se défendre contre ses prédateurs, la séquestration des glucosinolates ne semble pas efficace contre le parasitoïde *D. rapae*. Ce parasitoïde se développe mieux quand son hôte se nourrit de plantes riches en glucosinolates.

Nous avons également mis en évidence l'importance de la présence de plantes voisines sur le comportement de choix des phytophages et des parasitoïdes. Il en résulte un phénomène de résistance par association pour les plantes cibles entourées par *B. napus*, *B. nigra* et *S. lycopersicum* vis-à-vis du phytophage généraliste *M. persicae* et un phénomène de susceptibilité par association pour les plantes cibles entourées par *B. nigra* vis-à-vis du phytophage spécialiste *Br. brassicae*. Les parasitoïdes peuvent également procurer une protection aux plantes cibles entourées par *B. napus* en augmentant le taux de parasitisme sur *Br. brassicae*.

Enfin, malgré l'absence de structuration des populations du phytophage spécialiste, les analyses génétiques semblent indiquer une structuration des populations du parasitoïde par les plantes hôtes, la date et le site d'échantillonnage.

Pour conclure, ces résultats mettent en évidence l'importance de l'environnement proche des plantes et du degré de spécialisation des phytophages dans les interactions tritrophiques entre les plantes, les phytophages et leurs ennemis naturels. De plus, cette thèse montre que l'importance relative des effets liés à la plante hôte (« bottom up ») et ceux liés aux ennemis naturels (« top down ») dans la régulation des populations de ravageurs varie en fonction des espèces de plantes.

Mots-clés : interaction tritrophique, performance, préférence, structuration génétique, agroécosystème, résistance par association, puceron, généraliste, spécialiste, parasitoïde, Brassicacée

Summary

The impact of physiological, physical and chemical characteristics of host plant species on life history traits, behaviour and population genetic structure of herbivores and their natural enemies have been studied mostly within simplified trophic networks and between pairs of species, while most networks are quite complex. Differences among host plant species and the presence of neighbouring plants may also influence interactions among higher trophic levels. The aim of this thesis is to identify i) the impact of plant species on the performance of a generalist and a specialist herbivore and their natural enemies, ii) the impact of neighbouring plants on the behaviour of the herbivores and their natural enemies, and iii) the consequences on the population genetic structure of one herbivore and its main parasitoid in relation with their host plant species.

To answer these questions, four plant species in the Brassicaceae family, two wild species, *Brassica nigra* and *Sinapis arvensis*, and two cultivated species, *B. oleracea* and *B. napus* were chosen. These species differ in phenology, sugar and amino acid contents, and the identity and level of physical and chemical anti-herbivore defenses. In particular, Brassicaceae host plants produce secondary compounds, known as glucosinolates, that form highly toxic compounds for most herbivores after plant damage. The development and behaviour of the generalist aphid *Myzus persicae*, the specialist aphid *Brevicoryne brassicae* and their parasitoid *Diaeretiella rapae* on the four plant species were compared. The population genetic structure of the specialist aphid and its parasitoid *D. rapae* were also characterised.

The performance of the generalist aphid and its parasitoid were not reduced on the wild plant species. Performance of *M. persicae* was reduced on the cultivated species *B. napus*, whereas its parasitoid developed better on the wild species such as *S. arvensis*. On the contrary, performance of the specialist aphid did not differ between host plant species. Moreover, even if this aphid is able to sequester glucosinolates and to use them against its predators, sequestration of glucosinolates did not have a negative impact on the parasitoid *D. rapae*. This parasitoid developed better when its host fed on well-defended plants.

Neighbouring plants had an impact on the colonization of *B. oleracea* by the two aphids. We observed associational resistance against the generalist herbivore *M. persicae* when the focal plant was surrounded by *B. napus*, *B. nigra* or *S. lycopersicum*. We observed associational susceptibility to the specialist herbivore *B. brassicae* when the focal plant was surrounded by *B. nigra*. Moreover, parasitism rate on *B. brassicae* was higher when the focal plant was surrounded by *B. napus*.

Finally, even in the absence of population genetic structure for the specialist aphid, genetic analyses indicated structure of the parasitoid populations in relation with host plant species, time and area of sampling.

To conclude, this study stresses the importance of neighbouring plants and the degree of host specialisation of the herbivores in tritrophic interactions. Moreover, this thesis shows that the relative importance of « bottom up » factors and « top down » factors on herbivore populations may differ according to host plant species.

Key word: tritrophic interaction, performance, preference, genetic structure, agro-ecosystem, associational resistance, aphid, generalist, specialist, parasitoid, Brassicaceae

Tritrophic interactions between Brassicaceae, aphids and an endoparasitoid - Importance of host plants and neighbours